

Tampereen yliopisto

Terveystieteiden yksikkö

RAUDAN SAANTI RASKAUDEN AIKANA JA RASKAUSDIABETEKSEN RISKI

Pro gradu -tutkielma

Annika Helin

Tampereen yliopisto

Terveystieteiden yksikkö

Toukokuu 2013

TIIVISTELMÄ

TAMPEREEN YLIOPISTO
Terveystieteiden yksikkö

HELIN, ANNIKA: Raudan saanti raskauden aikana ja raskausdiabeteksen riski
Pro gradu -tutkielma, 55 sivua
Ohjaaja: Yliopistonlehtori Tarja Kinnunen
Kansanterveystiede
Toukokuu 2013

Raskausdiabetekseen sairastuneilla on todettu tutkimuksissa korkeampia veren rauta-arvoja kuin terveillä verrokeilla. Myös korkeammalla ravinnosta saatavan hemiraudan saannilla on todettu yhteys suurentuneeseen raskausdiabeteksen riskiin. Lisäksi raudanpuuteanemian tiedetään suojaavan raskausdiabetekseltä. Raudan saantia ja raskausdiabeteksen riskiä käsitteleviä tutkimuksia on tehty vasta muutamia. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tarkastella raskaudenaikaisen raudan saannin yhteyttä raskausdiabeteksen riskiin ja lisäksi tarkastella hemoglobiiniarvojen vaikutusta tähän yhteyteen.

Tutkimusaineistona käytettiin raskausdiabeteksen ehkäisyyn tähdänneen satunnaistetun kontrolloidun kokeen aineistoa. Kokeen tavoitteena oli vähentää raskausdiabeteksen ilmaantumista äitiysneuvolassa toteutetun liikunta- ja ravitsemusneuvonnan avulla naisilla, joilla oli vähintään yksi raskausdiabeteksen riskitekijä. Tässä tutkimuksessa koe- ja kontrolliryhmiä käsiteltiin yhtenä ryhmänä. Tässä etenevässä kohorttitutkimuksessa tarkasteltiin sekä ravinnosta että ravintolisistä saadun raudan yhteyttä raskausdiabeteksen ilmaantuvuuteen 399 raskaana olevan naisen aineistossa. Naisten raudan saantia selvitettiin 181-kohtaisella ruoankäytön frekvenssikyselyllä raskausviikoilla 26–28 ja raskausdiabetes todettiin glukoosirasituskokeella raskausviikoilla 26–28. Naisista 72:lla (18.1%) todettiin raskausdiabetes. Naiset jaettiin viiteen ryhmään päivittäisen raudan saannin mukaan. Korkeimmassa raudan saannin viidenneksessä havaittiin suurentunut riski sairastua raskausdiabetekseen (OR 1.55; 95% luottamusväli 0.81–2.96), mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä (P=0.19). Sen sijaan kun aineistosta poistettiin ne naiset, joilla hemoglobiiniarvo oli alhainen (≤ 120 g/l) jo alkuraskauden aikana, OR oli 2.21 (95% luottamusväli 1.11–4.41; P=0.025).

Tämän tutkimuksen tulokset viittaavat siihen, että korkea raudan saanti raskauden aikana saattaa lisätä raskausdiabeteksen riskiä varsinkin niillä naisilla, joilla hemoglobiini ei ole alhainen alkuraskauden aikana ja joilla on jokin raskausdiabeteksen riskitekijä. Tämä tulos merkitsee sitä, että tulisi harkita onko rutiininomainen ennaltaehkäisevän rautalisän käyttö perusteltua tässä riskiryhmässä.

Asiasanat: raskausdiabetes, raudan saanti, hemoglobiini

ABSTRACT

UNIVERSITY OF TAMPERE
School of Health Sciences

HELIN, ANNIKA: Iron intake during pregnancy and risk of gestational diabetes
Master's Thesis, 55 pages
Supervisor: University lecturer Tarja Kinnunen
Public Health
May 2013

Higher iron stores have been found in women with gestational diabetes mellitus (GDM). Also high intake of dietary heme iron has been associated with an increased risk of GDM. Additionally iron deficiency anaemia has been shown to reduce the incidence of GDM. Only few studies on iron intake and the risk of GDM have been made previously. The objective of this study was to investigate the association between iron intake during pregnancy, haemoglobin and the risk of GDM.

In this study we used the data of a randomised controlled GDM prevention trial. The objective of the trial was to prevent GDM in women with at least one risk factor for GDM by intensified counselling on physical activity and diet at maternity clinics. In this study the intervention and usual care groups were combined. In this prospective cohort study we investigated the association between iron intake from both diet and supplements and the risk of GDM in 399 pregnant women. Data on iron intake was collected using a 181-item food frequency questionnaire at 26–28 weeks' gestation and GDM was diagnosed by oral glucose tolerance test at 26–28 weeks' gestation. GDM was diagnosed in 72 (18.1%) women. The women were categorised into five groups according to their daily iron intake. Women in the highest fifth of total daily iron intake had an OR of 1.55 (95% confidence interval 0.81 to 2.96) for GDM, but it was not statistically significant ($P=0.19$). After excluding women with low haemoglobin levels (≤ 120 g/l) already in early pregnancy the OR was 2.21 (95% confidence interval 1.11 to 4.41; $P=0.025$).

Our results suggest that high iron intake during pregnancy may increase the risk of GDM especially in women who are not anaemic in the beginning of the pregnancy and who are at increased risk of GDM. These findings suggest that routine iron supplementation should be reconsidered in this risk group of women.

Key words: gestational diabetes mellitus, iron intake, haemoglobin

Viite artikkeliin:

Helin, A., Kinnunen, T. I., Raitanen, J., Ahonen, S., Virtanen, S. M., & Luoto, R. (2012). Iron intake, haemoglobin and risk of gestational diabetes: a prospective cohort study. *BMJ Open* 2012 Sep 25; 2(5):10.1136/bmjopen-2012-001730.

SISÄLTÖ

1. JOHDANTO	1
2. KIRJALLISUUSKATSAUS	3
2.1. Raskausdiabetes	3
2.1.1. Raskausdiabeteksen määrittely	3
2.1.2. Esiintyvyys ja riskitekijät	4
2.1.3. Raskausdiabeteksestä aiheutuvat riskit	5
2.2. Raudan aineenvaihdunta ja raskaus	7
2.3. Rauta ja diabetes	9
2.3.1. Raudan ja diabeteksen yhteys – hypoteesin taustaa	9
2.3.2. Epidemiologiset tutkimukset raudan ja tyypin 2 diabeteksen yhteydestä	10
2.3.3. Mahdolliset mekanismit yhteyden taustalla	15
2.4. Rauta ja raskausdiabetes	16
2.4.1. Rauta-arvojen mittauksiin perustuvat tutkimukset	16
2.4.2. Raudan saantiin perustuvat tutkimukset	19
3. LÄHTEET	23
4. ARTIKKELI	32
5. SELVITYS TUTKIMUKSEN TEOSTA	54

1. JOHDANTO

Raskausdiabetes määritellään glukoosiaineenvaihdunnan häiriöksi, joka alkaa tai todetaan ensimmäisen kerran raskauden aikana (American Diabetes Association 2012). Raskausdiabeteksen riskitekijöitä tiedetään olevan korkea ikä, korkea painoindeksi ja peritty alttius, mutta tarkat mekanismit sen aiheuttajina ovat vielä epäselviä (Jovanovic & Pettitt 2001). Yleensä glukoosiaineenvaihdunta korjaantuu synnytyksen myötä, mutta raskausdiabetekseen sairastuneilla on selkeästi suurentunut riski sairastua diabetekseen myös myöhemmin elämässään (Kim, Newton & Knopp 2002; Lee, Hiscock, Wein, Walker & Permezel 2007). Näin ollen raskausdiabetesta ei voida pitää pelkästään ohimenevänä vaiheena vaan sitä voidaan ajatella kehittymässä olevana diabeteksena. Tämän vuoksi se tarjoaa hyvän mahdollisuuden tutkia diabeteksen syntymekanismeja ja mahdollisia ennaltaehkäisykeinoja. (Buchanan, Xiang, Kjos & Watanabe 2007.) Äidin glukoosiaineenvaihdunnan häiriö vaikuttaa myös kehittyvään lapseen. Yleisin seuraus raskausdiabeteksestä on makrosomia eli sikiön suuri koko, joka aiheuttaa monenlaisia riskejä synnytykseen liittyen (Stotland, Caughey, Breed & Escobar 2004). Raskausdiabeteksella on myös pitkän aikavälin vaikutuksia syntyvään lapseen, kuten kohonnut ylipainoisuuden ja diabeteksen riski (Clausen ym. 2009; Clausen ym. 2008; Dabelea ym. 2008). Ylipaino on merkittävin raskausdiabeteksen riskitekijä, ja ylipainoisuuden yleistymisen myötä raskausdiabeteksen esiintyvyys onkin ollut kasvussa (Ferrara 2007). On kuitenkin arvioitu, että ylipaino selittäisi vain noin puolet raskausdiabetestapauksista (Kim ym. 2010), joten on tärkeää tutkia myös muita mahdollisia sairastumiseen vaikuttavia tekijöitä.

Tutkimuksissa on todettu, että henkilöillä, joilla elimistöön on kertynyt ylimäärin rautaa, esiintyy tavallista enemmän diabetesta (Powell & Yapp 2000). Tutkijat ovatkin esittäneet hypoteesin, jonka mukaan elimistön ylimääräinen rauta voisi olla yhteydessä diabeteksen kehittymiseen (Ks. esim. Fernandez-Real, Lopez-Bermejo & Ricart 2002b). Väestötutkimuksissa myös ihmisillä, joilla rautavarastot ovat normaalin rajoissa, on todettu, että suuremmat rautavarastot ovat yhteydessä suurempiin tyypin 2 diabeteksen ja raskausdiabeteksen riskeihin (Forouhi ym. 2007; Jiang ym. 2004a; Lao, Chan & Tam 2001; Chen, Scholl & Stein 2006). Lisäksi

raudanpuuteanemian on todettu suojaavan raskausdiabetekselta (Lao & Ho 2004). Rautavalmisteiden käyttö raskausaikana on hyvin yleistä, ja usein rautalisää käytetään myös ilman todettua raudanpuutetta (Arkkola ym. 2006; Weinberg 2009). Raskausdiabeetikoiden raudan saantia ja rautavarastoja on tutkittu jonkin verran, mutta tutkimustulokset eivät ole olleet yksiselitteisiä. Diabeteksen taustalla olevat mekanismit ovat pitkälti vielä selvittämättä, ja kaiken kaikkiaan kysymyksessä on varmasti monimutkainen ilmiö. Tutkimalla rauta-aineenvaihdunnan mahdollisia yhteyksiä diabeteksen kehittymiseen saamme lisää tietoa ilmiön taustoista.

Tämän tutkimuksen tavoitteena on selvittää, onko raskaudenaikainen raudan saanti yhteydessä raskausdiabetekseen sairastumiseen naisilla, joilla on vähintään yksi raskausdiabeteksen riskitekijä. Tässä tutkimuksessa tarkastellaan sekä ravinnosta että rautalisista saatavan raudan vaikutusta raskausdiabetekseen ja lisäksi käytetään hyväksi myös tietoa naisten hemoglobiiniarvoista. Tutkimuksen aineistona on käytetty raskausdiabeteksen ehkäisyyn tähdänneen NELLI (neuvonta, elintavat ja liikunta neuvolassa) -tutkimuksen aineistoa (Luoto ym. 2010; Luoto ym. 2011). Tämä opinnäytetyö koostuu kirjallisuuskatsauksesta ja tutkimusartikkelista. Lisäksi työssä on selvitys, josta käy ilmi kirjoittajan osuus tutkimuksen teossa.

2. KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1. Raskausdiabetes

2.1.1. Raskausdiabeteksen määrittely

Normaaliin raskauteen kuuluu raskauden jälkipuolella kehittyvä insuliiniresistenssi, johon elimistö vastaa lisäämällä haiman insuliinintuotantoa. Jos raskaana olevan naisen haima ei pysty lisäämään insuliinintuotantoaan riittävästi vastatakseen insuliiniresistenssiin, on kyseessä raskausdiabetes. (Buchanan ym. 2007.) Raskauden aikana kehittyvä insuliiniresistenssi on voimakkuudeltaan suunnilleen samansuuruinen kuin tyypin 2 diabeteksessa. Insuliiniresistenssin oletetaan johtuvan lähinnä istukan tuottamien hormonien vaikutuksista ja elimistön rasvakudosten kasvusta, ja se korjaantuu nopeasti synnytyksen jälkeen. (Buchanan ym. 2007.) Raskausdiabetes määritellään glukoosiaineenvaihdunnan häiriöksi, joka alkaa tai todetaan ensimmäisen kerran raskauden aikana (American Diabetes Association 2012). Määrittely on melko väljä eikä se sulje pois jo ennen raskautta alkaneita tiloja, jotka todetaan vasta raskauden aikana tai raskauden aikana puhkeavia pysyväksi jääviä tiloja. Raskausdiabeteksen ollessa kyseessä insuliiniresistenssi korjaantuu synnytyksen jälkeen.

Raskausdiabetes todetaan glukoosirasituskokeella. Suomessa on käytössä monen muun maan tapaan glukoosirasituskoe, jonka aikana nautitaan 75 grammaa glukoosia veteen liuotettuna aamulla yöllisen 12 tunnin paaston jälkeen (Raskausdiabetes: Käypä hoito -suositus 2008). Kokeen aikana mitataan laskimoplasman glukoosi kolmena ajankohtana: yöllisen paaston jälkeen, tunnin kuluttua glukoosiliuoksen nauttimisen jälkeen ja kaksi tuntia sen jälkeen. Jos näistä arvoista yksikin poikkeaa normaaliarvoista, kyseessä on raskausdiabetes. Suomessa käytössä olevat raja-arvot ovat: paastoarvo ≥ 5.3 mmol/l, yhden tunnin arvo ≥ 10.0 mmol/l ja kahden tunnin arvo ≥ 8.6 mmol/l. (Raskausdiabetes: Käypä hoito -suositus 2008.) Nykyään Suomessa glukoosirasituskoe suositellaan tehtäväksi pääsääntöisesti kaikille naisille raskausviikoilla 24–28. Seulonnan

ulkopuolelle jätetään vain hyvin pienen riskin naiset, kuten alle 25-vuotiaat normaalipainoiset (painoindeksi, BMI <25 kg/m²) ensisynnyttäjät, joiden lähisukulaisilla ei ole tyypin 2 diabetesta ja alle 40-vuotiaat uudelleensynnyttäjät, joiden aiemmassa raskaudessa ei ole esiintynyt raskausdiabetesta eikä makrosomiaa eli sikiön liikakasvua (lapsen paino yli 4 500 g) ja joiden painoindeksi raskauden alkaessa on alle 25 kg/m². (Raskausdiabetes: Käypä hoito -suositus 2008.)

2.1.2. Esiintyvyys ja riskitekijät

Yhdysvalloissa on arvioitu, että raskausdiabetesta esiintyy noin 7%:ssa kaikista raskauksista ja esiintyvyys vaihtelee 1–14%:n välillä tutkittavasta väestöstä ja diagnostisesta testistä riippuen (American Diabetes Association 2012). Vuonna 2011 synnyttäneistä suomalaisista naisista 12.5%:lla todettiin patologinen arvo glukoosirasitustestissä (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2012.) Tutkimusten mukaan raskausdiabeteksen esiintyvyys on ollut kasvussa viimeisten 20 vuoden aikana. Eri väestöissä ja erilaisilla metodeilla tutkittuna raskausdiabeteksen esiintyvyys on suurentunut 16–127%:a. (Ferrara 2007.) Näiden hyvin vaihtelevien lukujen on arveltu johtuvan esimerkiksi eroavaisuuksista diabeteksen tunnistamisessa ennen raskautta, synnytysten siirtymisestä myöhempään ikään, raskausdiabeteksen seulonnan yleistymisestä ja raja-arvojen muutoksista. Kuitenkin kun nämä seikat on otettu huomioon, näyttää edelleen siltä, että raskausdiabeteksen esiintyvyys on kasvussa. (Ferrara 2007.) Dabelea ym. (2005) tutkivat raskausdiabeteksen esiintymistä yli 36 000 raskaudessa naisilla, joilla oli erilaisia etnisiä taustoja, ja he totesivat että raskausdiabeteksen esiintyminen kaksinkertaistui kahdeksan vuoden seurantajakson aikana. Etnisten ryhmien välillä on todettu suuriakin eroja raskausdiabeteksen esiintyvyydessä. Länsimaissa on esimerkiksi todettu korkeampi raskausdiabeteksen esiintyvyys aasialaista syntyperää olevilla naisilla. (Hedderson, Darbinian & Ferrara 2010; Hunsberger, Rosenberg & Donatelle 2010.)

Äidin ylipainoisuus raskauden alkaessa lisää huomattavasti riskiä sairastua raskausdiabetekseen (Solomon ym. 1997). Riskin on arvioitu olevan suunnilleen

kaksinkertainen ylipainoisilla (BMI 25–29.9), kolminkertainen liikalihavilla (BMI ≥ 30) ja jopa viisi–kahdeksankertainen sairaalloisen lihavilla (Chu ym. 2007, Torloni ym. 2009). Kim ym. (2010) ovat arvioineet, että jos kaikilla ylipainoisilla naisilla (BMI ≥ 25) olisi samanlainen raskausdiabeteksen riski kuin normaalipainoisilla naisilla, lähes puolet raskausdiabetestapauksista voitaisiin välttää. Raskausdiabeteksen esiintyvyys väestössä kuvastaakin yleensä hyvin tyypin 2 diabeteksen esiintyvyyttä kyseisessä väestössä (Ferrara 2007). Vuoden 2011 tilastossa suomalaisista synnyttäjistä joka kolmas oli ylipainoinen (BMI ≥ 25) ja 12%:lla painoindeksi oli 30 tai enemmän (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2012). Myös runsas raskaudenaikainen painonnousu varsinkin alkuraskaudessa saattaa lisätä raskausdiabeteksen riskiä (Hedderson, Gunderson & Ferrara 2010). Muita tärkeimpiä raskausdiabetekselle altistavia riskitekijöitä ovat äidin korkea ikä (yli 25 vuotta), lähisukulaisilla todettu tyypin 2 diabetes ja aiempi glukoosiaineenvaihdunnan häiriö (Jovanovic & Pettitt 2001).

2.1.3. Raskausdiabeteksestä aiheutuvat riskit

Häiriintynyt glukoosiaineenvaihdunta raskausaikana aiheuttaa erilaisia riskejä sekä äidille että syntyvälle lapselle. Tavallinen raskausdiabetekseen liittyvä komplikaatio on makrosomia eli sikiön liikakasvu (Lawlor ym. 2010). Äidin hyperglykemia saa aikaan hyperglykemian myös sikiössä, sillä glukoosi siirtyy suoraan istukan läpi sikiöön (Walsh, Mahony, Byrne, Foley & McAuliffe 2011). Tämä aiheuttaa sikiössä liioitellun insuliinintuotannon, jonka seurauksena sikiö kasvaa liian suureksi. Makrosomisella lapsella varsinkin rasvakudoksen määrä on tavallista suurempi. (Walsh ym. 2011.) Sikiön suuri koko aiheuttaa monia riskejä synnytykseen liittyen, kuten hartiadystokiaa, vaikeita välilihanrepeämiä ja synnytyksen jälkeistä verenvuotoa ja lisäksi keisarinleikkauksia joudutaan tekemään enemmän makrosomiasta johtuen (Stotland ym. 2004).

Aiemmin sairastettu raskausdiabetes lisää riskiä sairastua siihen myös seuraavan raskauden aikana (MacNeill, Dodds, Hamilton, Armson & VandenHof 2001). MacNeillin ym. (2001) tutkimuksessa hieman yli kolmasosa raskausdiabetekseen sairastuneista sairastui siihen myös seuraavassa raskaudessaan. Sen sijaan jos

raskausdiabetesta ei ole ilmennyt ensimmäisen raskauden aikana, on melko epätodennäköistä sairastua siihen seuraavienkaan raskauksien aikana (Lu, Luchesse, Chapman, Cliver & Rouse 2002). Lun ym. (2002) tutkimuksessa 3 710 naisen aineistossa raskausdiabeteksen esiintyvyys oli noin 1% toisessa raskaudessa kun sitä ei ollut todettu ensimmäisen raskauden aikana. Kuitenkin raskauksien välillä tapahtuva painoindeksin nousu lisää riskiä sairastua raskausdiabetekseen toisessa raskaudessa, vaikka ei olisi sairastunut siihen ensimmäisessä raskaudessa. Tämä yhteys voidaan todeta varsinkin niillä naisilla, joiden painoindeksi on normaalilla tasolla ensimmäisen raskauden aikana. (Ehrlich ym. 2011.)

Vaikka glukoosiaineenvaihdunta yleensä korjaantuukin synnytyksen jälkeen, suuri osa raskausdiabeetikoista sairastuu diabetekseen uudelleen myöhemmin elämässään: sairastettu raskausdiabetes lisää selkeästi äidin riskiä sairastua myöhemmin elämässään tyypin 2 diabetekseen (Kim ym. 2002; Bellamy, Casas, Hingorani & Williams 2009). Lee ym. (2007) totesivat seurantatutkimuksessaan, että 15 vuoden seuranta-aikana 26% raskausdiabeteksen sairastaneista oli sairastunut tyypin 2 diabetekseen. Näin ollen tutkittavien naisten riski sairastua tyypin 2 diabetekseen oli lähes kymmenkertainen verrattuna kontrolliryhmään. (Lee ym. 2007.) Bellamyn ym. (2009) meta-analyysiin valittiin 20 tutkimusta, jotka sisälsivät yhteensä 675 455 naista. Analyysin tulokseksi saatiin, että vastaava riski on vähintään 7-kertainen. (Bellamy ym. 2009.) Lauenborgin ym. (2005) seurantatutkimuksessa todettiin, että aikaisemmin raskausdiabeteksen sairastaneilla oli kolminkertainen riski sairastua metaboliseen oireyhtymään. Tässä tutkimuksessa seuranta-ajan mediaani oli 9.8 vuotta. (Lauenborg ym. 2005.) Raskausdiabeteksen sairastaneille suositellaankin glukoosiarvojen säännöllistä seurantaa synnytyksen jälkeen (American Diabetes Association 2004).

Raskausdiabetes lisää myös syntyvällä lapsella ylipainoisuuden, metabolisen oireyhtymän ja tyypin 2 diabeteksen riskiä ja nämä riskit jatkuvat lapsuudesta aikuisikään (Clausen ym. 2008; Clausen ym. 2009; Dabelea ym. 2008). Clausenin ym. (2008) tutkimuksessa yli 20%:lla ruokavaliohoitoista raskausdiabetesta sairastaneiden naisten lapsista oli tyypin 2 diabetes tai alkava diabetes 22 ikävuoteen mennessä. Hillierin ym. (2007) tutkimuksessa todettiin, että

raskaudenaikainen hyperglykemia eli korkea verensokeri lisäsi selkeästi lasten ylipainoisuuden riskiä 5–7 vuoden iässä. Näyttäisi kuitenkin siltä, että tätä riskiä voidaan pienentää hoitamalla raskausdiabetesta, sillä hoidettujen ryhmää tarkasteltuaan tutkijat huomasivat, että yhteys ei ollut enää tilastollisesti merkitsevä. (Hillier ym. 2007).

2.2. Raudan aineenvaihdunta ja raskaus

Rauta on elimistölle välttämätön aine, joka toimii esimerkiksi happea sitovien molekyylien kuten hemoglobiinin ja myoglobiinin osana. Raudan imeytymistä ravinnosta säädellään tarkasti elimistön raudantarpeen mukaisesti. (Andrews 1999). Imeytynyttä rautaa elimistö ei pysty aktiivisesti poistamaan vaan ylimääräinen rauta kertyy elimistöön (Liu ym. 2009). Rautaa poistuu elimistöstä vain kuolleiden ihosolujen ja suoliston limakalvon solujen mukana sekä naisilla kuukautisvuodon mukana (Papanikolaou & Pantopoulos 2005). Ravinnossa rautaa esiintyy kahdessa muodossa: hemirautana ja ei-hemirautana (Qiu ym. 2011). Hemirautaa saadaan lihasta ja kalasta ja ei-hemirautaa kasvikunnan tuotteista ja maitovalmisteista. Hemiraudan imeytyminen on 2–3 kertaa tehokkaampaa ei-hemirautaan verrattuna, mutta suurin osa ravinnosta saatavasta raudasta (>85%) saadaan silti ei-hemirautana. (Qiu ym. 2011).

Raudan tarve kasvaa huomattavasti raskauden jälkimmäisellä puoliskolla. Rautaa tarvitaan punasolumassan kasvattamiseen, istukkaan ja sikiön tarpeisiin. (Bothwell 2000.) Raskauden aikana plasmavolyymi kasvaa huomattavasti enemmän suhteessa punasolumassan kasvuun, joten veren hemoglobiinipitoisuus pienenee ja on pienimmillään raskausviikoilla 24–32 (Williams & Wheby 1992, Milmanin, Bergholtin, Byggin, Eriksenin ja Graudalin 1999 mukaan). Tämä hemodiluutioksi kutsuttu ilmiö johtaa veren viskositeetin laskuun, joka parantaa verenvirtausta istukan kautta sikiöön ja parantaa näin sikiön ravintoaineiden saantia (Steer 2000).

Rautaa menetetään synnytyksen aikana verenvuodon mukana ja sikiön rautavarastoihin siirtyneen raudan kautta. Vastasyntyneen rautavarastojen koko

riippuu syntymäpainosta, joten isompia vauvoja saavat naiset menettävät enemmän rautaa (Milman ym. 1999). Raudan kokonaistarve raskausaikana on noin 1 200 mg, josta kuitenkin noin 450 mg palautuu takaisin rautavarastoihin synnytyksen jälkeen punasolumassan palautuessa raskautta edeltävälle tasolle (Bothwell 2000). On arvioitu, että selviytyäkseen raskaudenaikaisista muutoksista naisen elimistössä tulisi olla varastoituneena 500 mg rautaa raskauden alkaessa. Tutkimusten mukaan kuitenkin länsimaaisista naisista vain noin 15–20%:lla varastorautaa on vähintään 500 mg ja noin 30–40%:lla ei ole ollenkaan luuytimessä havaittavaa rautaa. (Milman ym. 1999.) Raskauden edetessä ja raudan tarpeen kasvaessa raudan imeytyminen ravinnosta lisääntyy huomattavasti (Bothwell 2000), mutta on arvioitu että monilla naisilla ravinnosta saatu ja varastoitunut rauta eivät silti riitä vastaamaan kasvaneeseen raudan tarpeeseen.

On arvioitu, että noin 40–60 mg ferrorautaa päivässä olisi riittävä raudanpuutetta ennaltaehkäisevä rauta-annos (Milman ym. 1999, Milman ym. 2005). Päivittäisen 66 milligramman annoksen ferrorautaa on todettu ehkäisevän raudanpuutetta 80–90%:lla ja raudanpuuteanemiaa kaikilla naisilla (Milman ym. 1999). Ennaltaehkäisevä rautavalmisteiden käyttö raskauden aikana on yleistä. Arkkolan ym. (2006) tutkimuksen mukaan suomalaisista raskaana olevista naisista 85% käytti jotakin ravintolisävalmistetta ja 78% rautaa sisältävää valmistetta raskauden aikana. Ennaltaehkäisevä rautavalmisteiden käyttö on myös kyseenalaistettu naisilla, joilla ei ole anemiaa, koska vahvoja todisteita sen hyödyllisyydestä ei ole tutkimuksissa osoitettu (Hemminki & Meriläinen 1995; Pena-Rosas JP & Viteri 2009). Voidaankin miettiä, onko tarpeellista suositella rautavalmisteita kaikille raskaana oleville naisille jos sillä saavutettavat hyödyt ovat vähäiset. Toisaalta joissakin tutkimuksissa rautavalmisteiden käytön on todettu mahdollisesti vähentävän esimerkiksi alhaisen syntymäpainon todennäköisyyttä (Siega-Riz ym. 2006; Cogswell, Parvanta, Ickes, Yip & Brittenham 2003). Kaiken kaikkiaan asiantuntijoiden mielipiteet vaihtelevat siitä, pitäisikö rautavalmisteita suositella kaikille raskaana oleville naisille, vai vain niille joilla anemia on todettu verikokeilla. Voidaan myös ajatella, että lievä raudanpuute raskauden aikana on luonnollista, eikä sitä välttämättä tarvitse pyrkiä korjaamaan naisilla, joilla ravitsemustila on hyvä ja joilla ei ole todettu anemiaa.

2.3. Rauta ja diabetes

2.3.1. Raudan ja diabeteksen yhteys – hypoteesin taustaa

Rauta-aineenvaihdunnan yhteyttä diabetekseen on alettu epäillä, koska sekundaarisen diabeteksen on huomattu olevan yleistä sairauksissa, joissa rautaa kertyy elimistöön ylimäärin. Hemokromatoosi on perinnöllinen sairaus, jossa raudan säätelyjärjestelmä ei toimi oikein ja ravinnosta imeytyy elimistöön liikaa rautaa (Powell & Yapp 2000). Hemokromatoosipotilailla rautaa imeytyy ravinnosta 2–3-kertainen määrä normaaliin verrattuna. Rautavarastot karttuvat pikku hiljaa vuosien mittaan, ja rautaylimäärä alkaa yleensä aiheuttaa oireita vasta aikuisiässä. (Andrews 1999.) Pitkälle edenneessä hemokromatoosissa voidaan todeta merkittävää raudan kertymistä moniin elimiin, kuten maksaan, haimaan, sydämeen ja endokriinisiin rauhasiin, mikä ilmenee monenlaisina elinvaurioina kuten maksan fibroosina tai kirroosina ja sydänlihaksen kardiomyopiatana. Suurella osalla, noin 30–60%:lla, hemokromatoosipotilaista todetaan sekundaarinen diabetes. (Powell & Yapp 2000.) Tarkka mekanismi, jolla elimistöön kertyvä rauta aiheuttaa diabetesta hemokromatoosipotilaissa on vielä selvittämättä. Kuitenkin myös eläinkokeissa on osoitettu, että suurilla rauta-annoksilla voidaan saada aiheutettua diabetes (Awai, 1979).

Rautavarastojen ja glukoosiaineenvaihdunnan yhteyttä tukee myös havainto siitä, että rautaylimäärän aiheuttamaa sekundaarista diabetesta voidaan korjata rautavarastoja pienentämällä. Rautaylimäärän aiheuttamaa diabetesta voidaan myös ehkäistä käyttämällä rautaa sitovaa lääkitystä (Brittenham ym. 1994). Glukoosiaineenvaihdunnan häiriöt voivat lievittyä kun elimistön rautavarastoja pienennetään laskemalla verta (Fernandez-Real ym. 2002a). Lisäksi verenluovutuksen on todettu parantavan insuliiniherkkyyttä terveilläkin ihmisillä (Fernandez-Real, Lopez-Bermejo & Ricart 2005). Näyttää myös siltä, että verenluovutuksen vaikutus on melko pitkäkestoinen: Fernandez-Realin ym. (2002a) tutkimuksessa vaikutus näkyi vielä vuodenkin päästä verenluovutuksesta. Myös rotilla tehdyissä kokeissa rautavarastoja pienentämällä on onnistuttu vähentämään tyyppin 2 diabetekseen liittyvää haiman toimintavajetta ja oksidatiivista stressiä (Minamiyama ym. 2010). Cookseyn ym. (2010)

tutkimuksessa hiirikokeissa hiirten glukoosiaineenvaihduntaan saatiin aikaan huomattava parannus joko rajoittamalla ravinnosta saatavan raudan määrää tai käyttämällä rautaa sitovaa lääkitystä. Ruokavaliohoidetuilla hiirillä vaikutus ei johtunut painon laskusta eikä hiirille myöskään tullut anemiasia. (Cooksey ym. 2010.)

On siis monenlaisia havaintoja joiden perusteella näyttäisi siltä, että raudalla voisi olla jonkinlaisia vaikutuksia glukoosiaineenvaihduntaan. Mielenkiintoista on varsinkin se, että raudan ja glukoosiaineenvaihdunnan välillä näyttäisi olevan yhteyttä myös ihmisillä, joilla ei ole elimistössä ylen määrin rautaa vaan rautavarastot ovat niin sanotusti normaaleissa rajoissa.

2.3.2. Epidemiologiset tutkimukset raudan ja tyypin 2 diabeteksen yhteydestä

Myös ihmisillä, jotka eivät sairasta raudankertymätautia on todettu yhteyksiä suurten rautavarastojen ja diabeteksen (tyyppi 2) välillä (Taulukko 1). Useimmissa tutkimuksissa elimistön rautavarastoja on mitattu seerumin ferritiinin avulla. Ferritiini on raudan varastoproteiini ja sen mittaamisen on todettu kuvaavan elimistön rautavarastoja hyvin (Cook, Finch & Smith 1976, Tuomaisen ym. 1997 mukaan). Tuomainen ym. (1997) tutkivat yli 1 000 suomalaisen miehen otoksessa tyypin 2 diabeteksen ja rautavarastojen yhteyttä. Tutkimuksen tuloksena oli, että seerumin ferritiini oli painoindeksin jälkeen toiseksi vahvin selittäjä verensokerille. Seerumin ferritiini oli myös kolmanneksi vahvin selittäjä seerumin insuliinipitoisuudelle painoindeksin ja iän jälkeen. (Tuomainen ym. 1997.) Seerumin ferritiinin voidaan siis ajatella kertovan jotain elimistön glukoosiaineenvaihdunnan tasapainosta. Tutkimuksen seurannassa todettiin, että miehillä, joilla oli suuremmat rautavarastot oli yli kaksinkertainen todennäköisyys sairastua tyypin 2 diabetekseen (Salonen, Tuomainen, Nyyssönen, Lakka & Punnonen 1998). Myös Fordin ja Cogswellin (1999) lähes 10 000 tutkittavan poikkileikkaustutkimuksessa korkea seerumin ferritiini oli yhteydessä hiljattain diagnosoituun diabetekseen. Miehillä, joilla oli korkeampi seerumin ferritiinitaso oli viisi kertaa todennäköisemmin hiljattain diagnosoitu diabetes kuin terveillä miehillä. Naisilla vastaava todennäköisyys oli 3.5-kertainen. (Ford & Cogswell

1999.) Tutkijat kuitenkin huomauttavat, että vaikka ferritiini on raudan varastoproteiini, se on myös inflammaatiotiloihin liittyvä merkkiaine ja siten korkeampi seerumin ferritiini voikin olla merkki elimistön tulehdusreaktiosta, eikä suurista rautavarastoista. Onkin myös esitetty epäilyjä siitä, että kohonnut seerumin ferritiini voisi olla ennemminkin seurausta diabeteksestä kuin sen syy. (Ford & Cogswell 1999; Jiang ym. 2004a.) Poikkileikkaustutkimusten perusteella ei myöskään voida suoraan päätellä yhteyttä rautavarastojen ja diabeteksen välille, koska elimistön rauta-arvoja on mitattu vasta diabetekseen sairastumisen jälkeen, jolloin ne saattavat ennemminkin kuvata elimistössä vallitsevaa inflammaatiotilaa (Jiang ym. 2004a).

Jiangin ym. (2004a) etenevässä tapaus-verrokki tutkimuksessa seurattiin keski-ikäisiä naisia 10 vuoden ajan ja rautavarastojen ja tyypin 2 diabeteksen yhteyttä tutkittiin ferritiini- ja transferriniireseptoriarvojen mittauksilla. Diabetekseen sairastuneilla seerumin ferritiini oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin verrokeilla, ja korkeimman ferritiinin ryhmässä tyypin 2 diabeteksen riski oli lähes kolminkertainen. Tämä tulos ei myöskään muuttunut vaikka tutkimuksessa huomioitiin c-reaktiivinen proteiini (CRP) merkkinä elimistön tulehdusreaktiosta mahdollisena sekoittavana tekijänä. (Jiang ym. 2004a.) Forouhi ym. (2007) ovat tutkineet tarkemmin tulehdusmerkkiaineita sekoittavina tekijöinä sekä maksaentsyymien (alaniiniaminotransferaasi ja gammaglutamyyli transferaasi) ja adiponektiinin vaikutusta. Heidän tutkimuksessaan korkeimman ferritiinin ryhmään kuuluneilla henkilöillä oli jopa 7-kertainen riski sairastua diabetekseen matalimman ferritiinin ryhmään verrattuna. Kun tutkijat ottivat huomioon CRP:n lisäksi kaksi muutakin merkkiainetta, tulokset eivät muuttuneet. Yhteys kuitenkin pieneni kolminkertaiseksi kun he ottivat huomioon maksaentsyymit ja adiponektiinin mahdollisina sekoittavina tekijöinä. (Forouhi ym. 2007.)

Monissa suurissa väestötutkimuksissa on siis havaittu yhteyksiä elimistön suurempien rautavarastojen ja tyypin 2 diabeteksen välillä, ja tutkijat ovat raportoineet suuriakin riskilukuja. Näiden lukujen tulkinnassa on kuitenkin käytettävä harkintaa, koska monessa tutkimuksessa ferritiiniarvojen mukaan jaotelluille ryhmille lasketut diabetesriskiluvut on laskettu tapaus-verrokkiaineistosta eikä näitä riskilukuja voida siis suoraan yleistää väestöön,

koska diabeteksen esiintyvyys väestössä on huomattavasti pienempi kuin tapaus-verrokkiaineistossa.

Raudan ja tyypin 2 diabeteksen yhteyttä on tutkittu myös raudansaannin perusteella (Taulukko 2). Rajpathak, Ma, Manson, Willett ja Hu (2006) tutkivat kohorttitutkimuksessaan raudan saannin vaikutusta tyypin 2 diabeteksen ilmaantuvuuteen amerikkalaisilla naisilla osana Nurses' Health study -tutkimusta. 20 vuoden seuranta-aikana heidän 85 031 naisen tutkimusväestössään ilmeni 4 599 (5.4%) sairastumista tyypin 2 diabetekseen. Tutkijat keräsivät ravitsemustietoja tutkittavilta neljän vuoden välein. Tutkimuksen tuloksissa yhteyttä diabetekseen ei havaittu kokonaisraudansaannilla eikä ravinnosta tai lisäravinteista saadulla raudalla, mutta lihatuotteista saatavalla hemiraudalla todettiin positiivinen yhteys sairastuvuuteen. (Rajpathak ym. 2006.) Myös muissa samankaltaisissa tutkimuksissa on havaittu yhteyksiä ravinnon hemiraudan ja tyypin 2 diabeteksen välillä (Lee, Folsom & Jacobs 2004; Jiang ym. 2004b).

TAULUKKO 1. Eliministön rautavarastojen yhteyttä tyyppin 2 diabetekseen selvittäneitä tutkimuksia

Viite	Tutkimusasetelma ja tutkimusväestö	n	Tutkittavat muuttujat	Huomioitut sekoittavat tekijät	Tulokset
Tuomainen ym. 1997	Kohorttitutkimus, jossa mukana keski-ikäisiä miehiä Itä-Suomesta	1 013	Seurumin ferritiini, seurumin insuliini, verensokeri ja seurumin fruktosamiini	Ikä, tutkimusvuosi ja -vuodenaika, lähisukulaisten diabeteshistoria, BMI, vyötärö-lantio-suhde, alkoholiinkulutus, fyysinen aktiivisuus, oraalisten diabeteslääkkeiden ja diureettien käyttö	Suuremmat rautavarastot olivat yhteydessä kohonneisiin glukositasapainoa kuvaaviin arvoihin.
Salonen ym. 1998	Upotettu tapaus-verrokkitutkimus osana edellisistä (Tuomainen ym. 1997) kohorttia, neljän vuoden seuranta	41+82	Transferriniinireseptorien ja ferritiinin suhdeluku mitattuna tutkimuksen alussa	kaltaistus: ikä, tutkimusvuosi ja -vuodenaika, kuukasi, asuinpaikka, tupakointi, fyysinen aktiivisuus, hapanotokkyky, sosioekonominen asema, pituus, paino, lantion ja vyötärön ympärys, verensokeri, seurumin insuliini ja muita veriarvoja	Miehillä joilla rautavarastot olivat suurimmat oli 2,4 kertaa muita suurempi todennäköisyys sairastua diabetekseen.
Ford & Cogswell 1999	Kohorttitutkimus, jossa mukana amerikkalaisia vähintään 20-vuotiaita aikuisia, (NHANES III - tutkimus)	9 486	Seurumin ferritiini, glukosinsietokyky, seurumin insuliini, glukosii ja glykosyloitunut hemoglobiini	Ikä, etninen tausta, koulutus, BMI, alkoholiinkulutus, alaniiniaminotransferaasi, CRP ja tutkimuskäynti	Korkea seurumin ferritiini oli yhteydessä diabetekseen. Miehillä, joilla oli korkea seurumin ferritiini, OR hiljattain diagnosoidulle diabetekselle oli 4,94. Naisilla vastaava OR oli 3,61.
Jiang ym. 2004a	Upotettu tapaus-verrokkitutkimus osana Nurses' Health Study kohorttia, mukana amerikkalaisia naisia, joita seurattiin 10 vuoden ajan	698+716	ferritiini ja transferriniinireseptorien ja ferritiinin suhdeluku	Ikä, etninen tausta, paasto, BMI, lähisukulaisten diabeteshistoria, fyysinen aktiivisuus, tupakointi, alkoholiinkulutus, vaihdevuodet, glykeeminen kuorma, energian, kuidun, magnesiumin ja transrasvojen saannit, monitydyttymät. ja tydyttyneen rasvan suhdeluku	Korkea seurumin ferritiini ja matala transferriniinireseptorien ja ferritiinin suhdeluku olivat yhteydessä korkeampaan tyyppin 2 diabetesriskiin. Korkeimman ferritiinin viidenkertainen RR diabetekselle oli 2,68.
Forouhi ym. 2007	Upotettu tapaus-verrokkitutkimus osana European Prospective Investigation of Cancer-Norfolk kohorttia, mukana englantilaisia 40-74-vuotiaita joita seurattiin keskimäärin 5 vuoden ajan	360+758	Seurumin ferritiini mitattuna saurannan alkaessa	Ikä, sukupuoli, BMI, lähisukulaisten diabeteshistoria, fyysinen aktiivisuus, tupakointi, kokonaisenergiansaanti, alkoholiinkulutus, punaisen ja prosessoidun lihan käyttö, monitydyttymättömyyden ja tydyttyneen rasvan saannin suhdeluku, raudan, magnesiumin ja kuidun saannit	Tyyppin 2 diabetekseen sairastuneilla seurumin ferritiini oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin verrokkeilla. Korkean ferritiinin ryhmällä OR diabetekselle oli 7,4 verrattuna alhaisimman ferritiinin ryhmään.

TAULUKKO 2. Raudan saannin yhteyttä tyypin 2 diabetekseen selvittäneitä tutkimuksia

Viite	Tutkimusasetelma ja tutkimusväestö	n	Tutkittavat muuttujat	Mittaustapa	Huomioidut sekoittavat tekijät	Tulokset
Rajpathak ym. 2006	Etenevä kohorttitutkimus osana Nurses' Health Study -tutkimusta, jossa seurattiin amerikkalaisia naisia 20 vuoden ajan	85 031	Raudan kokonaissaanti, raudan saanti ravinnosta ja ravintolisistä, hemiraudan ja ei-hemiraudan saannit	Kohortille lähetettiin joka neljäs vuosi ruoankäyttökysely, alussa (1980) oli käytössä 61-kohtainen kysely ja tämän jälkeen 131-kohtainen, kyselyssä kysyttiin keskimääräistä ruoankäyttöä edellisen vuoden ajalta	Ikä, BMI, lähisukulaisten diabeteshistoria, tupakointi, alkoholin kulutus, fyysinen aktiivisuus, hormoni- ja monivitamiinivalmisteiden käyttö, energian, kuidun, magnesiumin, kofeiinin ja transrasvojen saannit; kokojoivän, hedelmien ja vihannesten käyttö, monitydyttyneen rasvan suhde, glykeeminen kuorma	Kokonaisraudansaannilla, ravinnosta tai lisäravinteista saadulla raudalla ja ei-hemiraudan saannilla ei ollut yhteyttä diabetekseen, mutta hemiraudalla todettiin positiivinen yhteys diabetekseen.
Lee, Folsom & Jacobs 2004	Etenevä kohorttitutkimus, jossa seurattiin 55–69-vuotiaita amerikkalaisia naisia 11 vuoden ajan	35 698	Raudan saanti ravinnosta ja ravintolisistä, hemiraudan ja ei-hemiraudan saannit	127-kohtainen ruoankäyttökysely tutkimuksen alussa, kyselyssä kysyttiin keskimääräistä ruoankäyttöä edellisen vuoden ajalta	Ikä, energiansaanti, vyötärö-lanto-suhde, BMI, fyysinen aktiivisuus, tupakointi, alkoholin kulutus, koulutus, siviilisääty, asuinalue, hormoniterapia, eläin- ja kasvirasvan käyttö, kuidun, magnesiumin, ei-hemiraudan, hemiraudan ja lisäravinneraudan saannit	Hemiraudan saannilla oli positiivinen yhteys diabetekseen. Yhteys oli voimakkaampi naisilla jotka käyttivät alkoholia vähintään 15 grammaa päivässä ja heillä myös lisäravinteista saatu rauta oli yhteydessä diabetekseen.
Jiang ym. 2004b	Etenevä kohorttitutkimus, jossa amerikkalaisia 40–75-vuotiaita miehiä (terveydenhuollon ammattilaisia) seurattiin 12 vuoden ajan	38 394	Raudan kokonaissaanti, hemiraudan ja ei-hemiraudan saannit, verenluovutusten määrä	131-kohtainen ruoankäyttökysely tutkimuksen alussa ja neljän vuoden välein	Ikä, BMI, lähisukulaisten diabeteshistoria, fyysinen aktiivisuus, tupakointi, alkoholin kulutus, energian, transrasvojen, kuidun ja magnesiumin saannit; kokojoivän, hedelmien ja vihannesten käyttö; monitydyttyneen rasvan suhde, glykeeminen kuorma, monivitamiinivalmisteiden käyttö	Kokonaisraudansaanti ei ollut yhteydessä diabetekseen. Hemiraudan saanti ja punaisesta lihasta saatu hemirauta olivat yhteydessä diabetekseen. Hemiraudan saanti muista lähteistä ei ollut yhteydessä diabetekseen, eikä verenluovutuksella ollut yhteyttä diabetekseen.

2.3.3. Mahdolliset mekanismit yhteyden taustalla

Rautaa esiintyy kahdessa muodossa: ferromuotona (Fe^{2+}) ja ferrimuotona (Fe^{3+}), ja se hapettuu ja pelkistyy helposti (Andrews 1999). Rauta onkin erittäin reaktiivinen ioni, joka voi osallistua myös haitallisten reaktiivisten happiyhdisteiden muodostumiseen, ja tämän vuoksi sen metabolia on erittäin tarkkaan säädeltyä (Swaminathan, Fonseca, Alam & Shah 2007). Vaikka rauta onkin tärkeässä osassa tietyissä elimistön reaktioissa, se voi myös osallistua haitallisiin kudostuhoja aiheuttaviin reaktioihin. Rauta voi katalysoida reaktioita, joissa vetyperoksidista muodostuu vapaita radikaaleja, jotka voivat vahingoittaa solukalvoa, proteiineja ja DNA:ta. (Andrews 1999.)

Tutkijat ovat esittäneet muutamia ehdotuksia siitä, minkälaisilla mekanismeilla rauta voisi vaikuttaa glukoosiaineenvaihduntaan. Yksi teoria on, että elimistöön kertynyt rauta saattaisi estää insuliinin metaboliaa maksassa, mikä johtaa perifeeriseen hyperinsulinemiaan (Niedermaier 1984, Fernandez-Realin ym. 2002b mukaan; Wilson, Lindquist, Grambow, Crook & Maher 2003). Eläinkokeissa hemokromatoosiin liittyvän rautaylimäärän on todettu aiheuttavan oksidatiivista stressiä haiman β -soluissa, mikä johtaa haiman saarekkeiden tuhoutumiseen ja insuliininerityskapasiteetin heikkenemiseen. Tutkijoiden mukaan tämä mekanismi ei kuitenkaan ole yksinään riittävä syy diabeteksen kehittymiselle. (Cooksey ym. 2004.) Haiman β -solut saattavat kuitenkin olla muita soluja herkempiä raudan vaikutuksille esimerkiksi huonon antioksidanttisuojaus vuoksi ja ne saattavat ottaa vastaan rautaa helpommin (Olejnicka, Andersson, Tyrberg, Dalen & Brunk 1999). Raskauden aikana naisen elimistö on myös herkempi oksidatiiviselle stressille (Casanueva & Viteri 2003). Näyttäisi siltä, että rauta-ionit aiheuttavat kudostuhoa erityisesti kudoksissa, jotka sisältävät paljon mitokondrioita, kuten maksassa, sydämessä ja haiman β -soluissa. Vielä ei kuitenkaan ole pystytty tarkalleen selvittämään, mitä näissä soluissa tapahtuu. (Eaton & Qian 2002.) Swaminathan ym. (2007) huomauttaa, että rauta voi vaikuttaa diabeteksen kehittymiseen myös ilman merkittävää raudan ylimäärää, koska raudan kokonaismäärää oleellisempaa on niin kutsutun katalyyttisen raudan määrä eli

raudan, joka voi osallistua solutuhon aiheuttavien vapaiden radikaalien muodostumiseen.

2.4. Rauta ja raskausdiabetes

2.4.1. Rauta-arvojen mittauksiin perustuvat tutkimukset

Samoin kuin tyypin 2 diabeetikoilla, myös raskausdiabetekseen sairastuneilla on tehty tutkimuksia, joissa on pyritty selvittämään onko diabetekseen sairastuneilla suuremmat rautavarastot kuin terveillä verrokeilla (Taulukko 3). Lao ym. (2001) toteuttivat tapaus-verrokki -tutkimuksen, johon otettiin mukaan 401 kiinalaista naista, jotka kuuluivat raskausdiabeteksen riskiryhmään ja joilla ei ollut todettu anemioita. Naiset testattiin glukoosirasituskokeella raskausviikoilla 28–31. Naisista 97:llä todettiin raskausdiabetes (tapaukset), ja jäljelle jääneiden naisten joukosta kaikille heille valittiin kaksi verrokkia. Koska raskaus ja synnytys kuluttavat rautavarastoja verrokki kaltaistettiin synnytysten määrän suhteen, jotta tämä ei vaikuttaisi tuloksiin. Tutkimuksen tuloksena todettiin, että raskausdiabetekseen sairastuneiden ryhmällä veren rauta-arvot, seerumin ferritiini, seerumin rauta ja transferrinisaturaatio, olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeammat kuin verrokkiryhmällä. Tutkijoiden mukaan tämä tutkimustulos viittaa siihen, että suuremmilla rautavarastoilla on yhteyttä raskausdiabetekseen. (Lao ym. 2001.)

Afkhami-Ardekanin ja Rashidin (2009) pienemmässä iranilaisilla naisilla tehdyssä tapaus-verrokki tutkimuksessa oli mukana 34 naista, joilla oli todettu raskausdiabetes. Jokaiselle tapaukselle valittiin verrokki, joka kaltaistettiin klinikan, iän, synnytysten määrän ja painoindeksin mukaan. Naisilta tutkittiin rauta-arvoja raskausviikoilla 24–28. Raskausdiabetekseen sairastuneiden ryhmällä veren rauta-arvot, kuten seerumin rauta, hemoglobiini, ferritiini ja transferrinisaturaatio, olivat tilastollisesti merkitsevästi suuremmat kuin verrokkiryhmän naisilla. Ryhmällä ei ollut eroa lähisukulaisilla todetun raskausdiabeteksen tai diabeteksen suhteen. (Afkhami-Ardekani & Rashidi 2009.) Chen ym. (2006) tutkivat lähes 1 500 amerikkalaisen naisen aineistossa alkuraskauden seerumin ferritiinin yhteyttä raskausdiabetekseen. Viidestä

ferritiiniryhmästä korkeimman ferritiinin ryhmällä todettiin kaksinkertainen riski sairastua raskausdiabetekseen. Riskin tilastollinen merkitsevyys kuitenkin hävisi, kun tulokset vakioitiin ennen raskautta mitatulla painoindeksillä. Kun tutkijat tarkastelivat vain ylipainoisia naisia, korkeimman ferritiinin ryhmällä raskausdiabeteksen riski oli 3.5-kertainen. Tutkijat päättelivätkin että ferritiinin yhteys raskausdiabetekseen välittyisi ainakin osittain ylipainon kautta. Samasta aineistosta tehdyssä upotetussa tapaus-verrokkitutkimuksessa Chen ym. (2006) tarkastelivat seerumin ferritiiniarvon lisäksi c-reaktiivisen proteiinin yhteyttä raskausdiabetekseen. Suurin raskausdiabeteksen riski oli niillä naisilla, jotka kuuluivat sekä korkeimman ferritiinin että korkeimman CRP:n ryhmään. Tämän tuloksen tilastollinen merkitsevyys kuitenkin hävisi, kun tulokset vakioitiin ennen raskautta mitatulla painoindeksillä. (Chen ym. 2006.)

Lao, Chan, Tam ja Ho (2002) tutkivat alkuraskauden hemoglobiiniarvojen yhteyttä raskausdiabetekseen sairastumiseen kiinalaisilla naisilla. Tutkimuksen tuloksena todettiin, että korkea hemoglobiini alkuraskaudessa ($>13\text{g/dl}$) on riskitekijä raskausdiabetekselle. (Lao ym. 2002.) Niin ikään kiinalaisilla naisilla tehdyssä tutkimuksessa matalan hemoglobiinin sen sijaan todettiin suojaavan raskausdiabetekselta, ja raskausdiabetesta esiintyykin vähemmän naisilla, joilla on raskauden aikana anemia ($\text{Hb} <10\text{g/dl}$) (Lao & Ho 2004).

Monet tutkimukset siis viittaavat siihen, että elimistön suuremmat rautavarastot saattavat liittyä raskausdiabetekseen sairastumiseen. On kuitenkin suhtauduttava kriittisesti siihen, kuinka hyvin tietyt veren rauta-arvot kuten ferritiini tai hemoglobiini kuvaavat elimistön rautavarastoja. Esimerkiksi seerumin ferritiinin on todettu olevan kohonnut myös inflammaatiotiloissa, ja voikin olla, että korkea seerumin ferritiini on merkinä raskausdiabetekseen liittyvästä systeemisestä inflammaatiosta (Chen ym. 2006).

TAULUKKO 3. Rauta-arvojen yhteyttä raskausdiabetekseen selvittäneitä tutkimuksia

Viite	Tutkimusasetelma ja tutkimusväestö	n	GDM:n toteaminen ja määrittely	Tutkittavat muuttujat / Huomioitavat sekoittavat tekijät	Tulokset
Lao ym. 2001	Tapaus-verrokkitutkimus, jossa kiinalaisia naisia, joilla GDM:n riskitekijöitä ja normaali hemoglobiini	97+194	Kaikille 75 g OGTT raskausviikolla 28-31; WHO:n kriteerit	Seurumin ferritiini, rauta ja transferrinisaturaatio	Seurumin ferritiini ja rauta sekä transferrinisaturaatio olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeammat GDM ryhmässä.
Afkhami-Ardekani & Rashidi 2009	Tapaus-verrokkitutkimus, jossa mukana iranilaisia naisia	34+34	Kaikille 100 g OGTT raskausviikolla 24-28; ADA:n kriteerit	Seurumin ferritiini, rauta ja raudansitomiskapasiteetti, transferrinisaturaatio, hemoglobiini, punasolujen keskitilavuus ja punasolujen keskihemoglobiini	Seurumin ferritiini, rauta ja transferrini-saturaatio, hemoglobiini, punasolujen keskitilavuus ja punasolujen keskihemoglobiini olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeammat ja raudansitomiskapasiteetti matalampi GDM ryhmällä.
Chen, Scholl & Stein ym. 2006	Etenevä kohorttitutkimus, jossa terveitä amerikkalaisia naisia Camdenista New Jersey'n osavaltiota	1456	Kaikille 50 g 1 h OGCT raskausviikolla 28, jos glukoosiarvo oli > 140 mg/dl suoritettiin diagnostinen OGTT; ADA:n kriteerit	Seurumin ferritiini / Ikä, etninen tausta, synnyttäneisyys, lähisukulaisien diabeteshistoria, raskauden kesto verikokeen ottohetkellä, tupakointi ja BMI ennen raskautta	Alkuraskaudessa mitattu seurumin ferritiini oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi raskausdiabeetikoilla. Korkeimman ferritiinin viidenneksellä oli kaksinkertainen GDM:n riski, mutta tilastollinen merkitsevyys hävisi kun tulokset vakioitiin ennen raskautta mitatulla painoindeksillä.
Lao, Chan, Tam & Ho 2002	Etenevä kohorttitutkimus, jossa kiinalaisia naisia, joilla normaali hemoglobiini ja punasolujen keskitilavuus mitattuna viimeistään raskausviikolla 14	730	Riskiryhmälle 75 g 2 h OGTT ja muille verensokerin mittaus raskausviikolla 28-30, josta epänormaalin arvon saaneille OGTT; WHO:n kriteerit	Hemoglobiini alkuraskaudessa (mitattuna viimeistään raskausviikolla 14) / Ikä, BMI, synnyttäneisyys	Korkeimman hemoglobiinin (> 13 g/dl) neljänneksessä raskausdiabetesta esiintyi tilastollisesti merkitsevästi enemmän kuin alhaisimman hemoglobiinin ryhmässä (18.7% vs. 10.9%, P=0.007).
Lao & Ho 2004	Retrospektiivinen tapaus-verrokkitutkimus, jossa mukana kiinalaisia naisia, tapaukset olivat naisia, joilla oli todettu anemia raskauden aikana (Hb < 10 g/dl)	242+484	Riskiryhmälle 75 g 2 h OGTT ja muille verensokerin mittaus raskausviikolla 28-30, josta epänormaalin arvon saaneille OGTT; WHO:n kriteerit	Hemoglobiini, punasolujen keskitilavuus, anemian ajoitus, kesto ja vakavuus / BMI ja synnyttäneisyys	Anemia oli yhteydessä matalampaan GDM:n riskiin (OR 0.46). Anemian keston ja vakavuuden ja GDM:n ilmaantuvuuden välillä havaittiin myös negatiivinen korrelaatio.

2.4.2. Raudan saantiin perustuvat tutkimukset

Viime vuosina on julkaistu muutamia tutkimuksia, joissa raudan ja raskausdiabeteksen yhteyttä on pyritty tutkimaan raudan saannin perusteella (Taulukko 4). Qiu ym. (2011) tutkivat raudan saantia ennen hedelmöitystä ja alkuraskaudessa 3 158 amerikkalaisen naisen aineistossa. Ruoankäytön frekvenssikyselyllä arvioitiin hemi- ja ei-hemiraudan saantia, ja raskausdiabeteksen esiintyvyyttä vertailtiin raudansaannin ryhmissä. Tämän tutkimuksen tuloksena oli, että naisilla jotka kuuluivat korkeimman hemiraudan saannin ryhmään oli 2–3-kertainen riski sairastua raskausdiabetekseen. Ei-hemiraudan saanti oli käänteisessä yhteydessä raskausdiabeteksen esiintyvyyteen, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. (Qiu ym. 2011.) Bowers ym. (2011) tutkivat raudan saantia ravinnosta ja lisäravinteista ennen raskautta 13 475 amerikkalaisen naisen aineistossa osana Nurses' Health Study II -tutkimusta. Naisten raudan saantia mitattiin neljän vuoden välein lähetetyllä ruoankäytön frekvenssikyselyllä ja naisia pyydettiin raportoimaan raskausdiabetekseen sairastuminen kohortille joka toinen vuosi lähetettävässä kyselyssä. Myös tässä tutkimuksessa tutkijat löysivät positiivisen yhteyden hemiraudan saannin ja raskausdiabeteksen välillä. Korkeimman hemiraudan saannin ryhmässä raskausdiabeteksen riski oli vakioinnin jälkeen noin puolitoistakertainen. Kokonaisraudansaannin, ei-hemiraudan saannin ja rautavalmisteiden käytön ei havaittu vaikuttavan raskausdiabeteksen riskiin. (Bowers ym. 2011.) Kummassakaan näistä tutkimuksista ei kuitenkaan ollut käytettävissä tietoa raudan saannista tai rautavalmisteiden käytöstä myöhemmin raskauden aikana, eikä rauta-arvoja ollut mitattu verestä, joten tuloksia voidaan pitää suuntaa-antavina.

Bo ym. (2009) valitsivat tutkimukseensa mukaan italialaisia raskaana olevia naisia, joista 500 oli sairastunut raskausdiabetekseen ja 500 joilla ei ollut todettu raskausdiabetesta. Tutkittavia tarkasteltiin rautavalmisteiden käytön perusteella. Rautavalmisteita käyttäneillä naisilla todettiin 2–3-kertainen riski sairastua raskausdiabetekseen. Tämän tuloksen yleistettävyyttä kuitenkin heikentää se, että tapaus-verrokkiaineistoa analysoitiin tutkimusasetelman vastaisesti altisteesta käsin. Tutkijat raportoivat myös, että naisilla jotka eivät sairastaneet

raskausdiabetesta rautavalmisteita käyttäneillä todettiin korkeampia arvoja glukoosirasitustestissä. Tutkijoilla ei kuitenkaan ollut tietoa tutkittavien hemoglobiinitasoista tai muista rautavarastoja kuvaavista arvoista, ravinnosta saatavasta raudasta, eikä rautavalmisteen käytön syystä (mahdollisesta anemiasta). (Bo ym. 2009.)

Chan, Chan, Lam, Tam ja Lao (2009) ovat tehneet kiinalaisilla naisilla tähän mennessä ainoan satunnaistetun plasebokontrolloidun kliinisen kokeen rautavalmisteen käytön ja raskausdiabeteksen yhteyden tutkimiseksi. Tässä tutkimuksessa 565 naista käytti rautavalmistetta ja 599 naista plasebovalmistetta raskausviikolta 16 viikolle 28 ja edelleen raskausviikolle 36 asti. Tutkimuksessa käytetty rautavalmiste sisälsi 60 mg ferrorautaa. Rautavalmisteen ja plasebovalmisteen toteutunut käyttö oli 54% raskausviikolle 28 ja 63% raskausviikolle 36 mennessä. Raskausdiabetes todettiin sokerirasituskokeella, joka tehtiin kaikille naisille raskausviikolla 28 ja uudelleen raskausviikolla 36 niille naisille, joilla ei ollut tähän mennessä todettu raskausdiabetesta. Rautavalmistetta käyttäneiden ryhmässä seerumin ferritiini nousi tilastollisesti merkitsevästi korkeammaksi kuin plaseboryhmällä, mutta hemoglobiiniarvoissa ei ollut eroa ryhmien välillä raskausviikolla 28. Raskausviikolla 36 sekä ferritiini että hemoglobiini olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeammat rautavalmistetta käyttäneillä. Raskausdiabeteksen esiintymisessä ei kuitenkaan todettu tilastollisesti merkitsevää eroa rautavalmistetta käyttäneiden ja plaseboa saaneiden naisten välillä raskausviikolla 28 eikä raskausviikolla 36. (Chan ym. 2009.) Voidaan kuitenkin pohtia, oliko tutkimuksessa käytetty rautavalmiste riittävän suuri vaikuttamaan raskausdiabeteksen puhkeamiseen, varsinkin kun 60 mg vahvuisen valmisteen toteutunut käyttö oli keskimäärin vain noin 50% raskausviikolle 28 mennessä.

Raudan saantia ja raskausdiabetesta on tähän mennessä tutkittu vasta melko vähän. Lisäksi tutkimuksissa on ollut tietoa vain esimerkiksi raudan saannista raskautta edeltävältä ajalta tai vain ravinnosta, eikä näissä tutkimuksissa ole ollut tietoa veren rauta-arvoista. Tutkimalla raudan saantia sekä ravinnosta että rautavalmisteista raskauden aikana sekä mittaamalla veren rauta-arvoja saataisiin

luotettavampaa tietoa raskaudenaikaisen raudan saannin mahdollisesta yhteydestä raskausdiabetekseen.

TAULUKKO 4. Raudan saannin yhteyttä raskausdiabetekseen selvittäneitä tutkimuksia

Viite	Tutkimusasetelma ja tutkimusväestö	n	GDM:n toteaminen ja määrittely	Tutkittavat muuttujat ja mittaus tapa	Huomioidut sekoittavat tekijät	Tulokset
Qiu ym. 2011	Prospektiivinen kohorttutkimus, jossa mukana amerikkalaisia naisia Washingtonin osavaltiota	3 158	Kaikkille 50 g 1 h OGTT raskausviikoilla 24–28, seuranta 100 g 3 h OGTT 1–2 viikon kuluttua niille jotka eivät läpäisseet; ADA:n kriteerit	Hemi- ja ei-hemiraudan saanti; 121-kohtainen ruoankäyttökysely, jolla selvitettiin ruoankäyttöä 3 kk ajalta (ennen raskautta ja alkuraskaudessa)	Energian saanti, ikä, etninen tausta, synnyttäneisyys, fyysinen aktiivisuus, BMI ennen raskautta, kuidun, C-vitamiinin, tydytetyneen rasvan, kolesterolin ja punaisen ja prosessoidun lihan saanti	Hemiraudan saanti oli yhteydessä GDM:n ilmaantuvuuteen. Vakoinnin jälkeen korkeimman hemiraudan saannin ryhmällä havaittiin 2–3 -kertainen riski sairastua raskausdiabetekseen.
Bowers ym. 2011	Prospektiivinen kohorttutkimus (Nurses' Health Study II), jossa mukana amerikkalaisia sairaanhoitajia	13 475	Sairastumista kysyttiin kohortille joka toinen vuosi lähetettävässä kyselyssä	Kokonais-, hemi- ja ei-hemiraudan saanti, rautaisän käyttö; 133-kohtainen ruoan-käyttökysely (4 vuoden välein kysyttiin keski-määräistä käyttöä edellisen vuoden ajalta)	Ikä, synnyttäneisyys, BMI, fyysinen aktiivisuus, glykeeminen kuorma, monitydytymättömien rasvojen ja kuidun saanti, tupakointi, alkoholin käyttö, energian saanti ja lähsukuisten diabeteshistoria	Hemiraudan saanti oli yhteydessä GDM:n ilmaantuvuuteen. Vakoinnin jälkeen korkeimman hemiraudan saannin viidenneksessä RR sairastumiselle oli 1.58 (95% luottamusväli 1.21–2.08; P=0.001).
Bo ym. 2009	Tapaus-verrokkitutkimus, jossa mukana italialaisia naisia	500+500	Kaikkille 50 g 1 h OGTT raskausviikoilla 24–28 ja 1-2 viikon kuluttua 100 g 3 h OGTT; Carpenterin ja Coustanin kriteerit	Rautaisän käyttö; käyttöä selvitettiin haastattelulla, rautaisän tyyppi, vahvuus ja käyttöaika selvitettiin potilastiedoista	Ikä, lähsukuisten diabeteshistoria, BMI ennen raskautta, koulutustaso, tupakointi, synnyttäneisyys, rautaisän käytön kesto, tämänhetkinen työtilisyys	Naisista 21% käytti rautaisää, (105 mg ferorautaa, mediaani käyttöaika 5 viikkoa). Rautaisää käytäneillä oli 2-3-kertainen GDM riski. Rautaisän käyttö oli yhteydessä korkeampiin glukoosiarvoihin OGTT:ssä sekä GDM että verrokkiryhmällä.
Chan, Chan, Lam, Tam & Lao 2009	Satunnaistettu plasebokontrolloitu koe, jossa kiinalaisia naisia, koeryhmä käytti 60 mg vahvuista rautaisää raskausviikolta 16 viikolle 36	565+599	Kaikkille 75 g 2 h OGTT raskausviikoilla 28–30, testi uusittiin viikolla 36 niille joilla ei aikaisemmin todettu raskausdiabetesta; WHO:n kriteerit	GDM todettuna raskausviikolla 28, 2 h glukoosiarvo OGTT:ssä, GDM todettuna raskausviikolla 36 ja synnytykseen ja lapseen liittyvät tiedot		GDM:n ilmaantuvuudessa ei ollut eroa ryhmien välillä raskausviikolla 28 eikä 36. Koeryhmällä oli vähemmän elektivisiä keisarinleikkauksia, lapset olivat painavampia ja gestaatioikään nähden pieniä vauvoja oli vähemmän.

3. LÄHTEET

Afkhami-Ardekani, M., & Rashidi, M. (2009). Iron status in women with and without gestational diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Its Complications*, 23, 194-198.

American Diabetes Association. (2004). Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27(Suppl 1), 88-90.

American Diabetes Association. (2012). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 35(Suppl 1), 64-71.

Andrews, N. (1999). Disorders of iron metabolism. *New England Journal of Medicine*, 341(26), 1986-1995.

Arkkola, T., Uusitalo, U., Pietikäinen, M., Metsälä, J., Kronberg-Kippilä, C., Erkkola, M., Veijola, R., Knip, M., Virtanen, S. M., & Ovaskainen, M-L. (2006). Dietary intake and use of dietary supplements in relation to demographic variables among pregnant Finnish women. *British Journal of Nutrition*, 96, 913–920.

Awai, M., Narasaki, M., Yamanoi, Y., & Seno, S. (1979). Induction of Diabetes in Animals by Parenteral Administration of Ferric Nitritotriacetate. *American Journal of Pathology*, 95, 663-674.

Bellamy, L., Casas, J-P., Hingorani, A. D., & Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 373, 1773–1779.

Bo, S., Menato, G., Villos, P., Gambino, R., Cassader, M., Cotrino, I., & Cavallo-Perin, P. (2009). Iron supplementation and gestational diabetes in midpregnancy. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 201, 158.e1-6.

Bothwell, T. H. (2000). Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(suppl), 257S–264S.

Bowers, K., Yeung, E., Williams, M. A., Qi, L., Tobias, D. K., Hu, F. B., & Zhang, C. (2011). A prospective study of prepregnancy dietary iron intake and risk for gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34, 1557-1563.

Brittenham, G. M., Griffith, P. M., Nienhuis, A. W., McLaren, C. E., Young, N. S., Tucker, E. E., Allen, C. J., Farrell, D. E., & Harris, J. W. (1994). Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *New England Journal of Medicine*, 331(9), 567-573.

Buchanan, T. A., Xiang, A., Kjos, S. L., & Watanabe, R. (2007). What is gestational diabetes? *Diabetes Care*, 30(Suppl 2), S105-111.

Casanueva, E., & Viteri, F. E. (2003). Iron and Oxidative Stress in Pregnancy. *The Journal of Nutrition*, 133, 1700S–1708S.

Chan, K., Chan, B., Lam, K., Tam, S., & Lao, T. (2009). Iron supplement in pregnancy and development of gestational diabetes — a randomised placebo-controlled trial. *BJOG*, 116, 789–798.

Chen, X., Scholl, T. O., & Stein, T. P. (2006). Association of elevated serum ferritin levels and the risk of gestational diabetes mellitus in pregnant women: The Camden study. *Diabetes Care*, 29(5), 1077-1082.

Chu, S. Y., Callaghan, W. M., Kim, S.Y., Schmid, C. H., Lau, J., England, L. J., & Dietz, P. M. (2007). Maternal obesity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 30, 2070–2076.

Clausen, T. D., Mathiesen, E. R., Hansen, T., Pedersen, O., Jensen, D. M., Lauenborg, J., & Damm, P. (2008). High Prevalence of Type 2 Diabetes and Pre-Diabetes in Adult Offspring of Women With Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 31, 340–346.

Clausen, T. D., Mathiesen, E. R., Hansen, T., Pedersen, O., Jensen, D. M., Lauenborg, J., Schmidt, L., & Damm, P. (2009). Overweight and the Metabolic Syndrome in Adult Offspring of Women with Diet-Treated Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94, 2464-2470.

Cogswell, M. E., Parvanta, I., Ickes, L., Yip, R., & Brittenham, G. M. (2003). Iron supplementation during pregnancy, anemia, and birth weight: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(4), 773-781.

Cooksey, R. C., Jouihan, H. A., Ajioka, R. S., Hazel, M. W., Jones, D. L., Kushner, J. P., & McClain, D. A. (2004). Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. *Endocrinology*, 145(11), 5305-5312.

Cooksey, R. C., Jones, D., Gabrielsen, S., Huang, J., Simcox, J. A., Luo, B., Soesanto, Y., Rienhoff, H., Abel, E. D., & McClain, D. A. (2010). Dietary iron restriction or iron chelation protects from diabetes and loss of beta-cell function in the obese (*ob/ob lep !/!*) mouse. *American Journal of Physiology - Endocrinology & Metabolism*, 298(6), E1236-1243.

Dabelea, D., Snell-Bergeon, J. K., Hartsfield, C. L., Bischoff, K. J., Hamman, R. F., & McDuffie, R. S. (2005). Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) over time and by birth cohort: Kaiser Permanente of Colorado GDM Screening Program. *Diabetes Care*, 28(3), 579-584.

Dabelea, D., Mayer-Davis, E. J., Lamichhane, A. P., D'Agostino, R. B. Jr., Liese, A. D., Vehik, K. S., Narayan, K. M., Zeitler, P., & Hamman, R. F. (2008). Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH Case-Control Study. *Diabetes Care*, 31(7), 1422-1426.

Eaton, J.W., & Qian, M. (2002). Molecular bases of cellular iron toxicity. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(9), 833-840.

Ehrlich, S. F., Hedderson, M. M., Feng, J., Davenport, E. R., Gunderson, E. P., & Ferrara, A. (2011). Change in body mass index between pregnancies and the risk of gestational diabetes in a second pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*, 117(6), 1323-1330.

Fernandez-Real, J. M., Penarroja, G., Castro, A., Garcia-Bragado, F., Hernandez-Aguado, I., & Ricart, W. (2002a). Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes: effects on insulin sensitivity and beta-cell function. *Diabetes*, 51(4), 1000-1004.

Fernandez-Real, J. M., Lopez-Bermejo, A., & Ricart, W. (2002b). Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes*, 51(8), 2348-2354.

Fernandez-Real, J. M., Lopez-Bermejo, A., & Ricart, W. (2005). Iron stores, blood donation, and insulin sensitivity and secretion. *Clinical Chemistry*, 51(7), 1201-1205.

Ferrara, A. (2007). Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care*, 30(Suppl 2), S141-146.

Ford, E. S., & Cogswell, M. E. (1999). Diabetes and serum ferritin concentration among U.S. adults. *Diabetes Care*, 22(12), 1978-1983.

Forouhi, N. G., Harding, A. H., Allison, M., Sandhu, M. S., Welch, A., Luben, R., Bingham, S., Khaw, K. T., & Wareham, N. J. (2007). Elevated serum ferritin levels predict new-onset type 2 diabetes: results from the EPIC-Norfolk prospective study. *Diabetologia*, 50(5), 949-956.

Hedderson, M. M., Darbinian, J. A., & Ferrara, A. (2010). Disparities in the risk of gestational diabetes by race-ethnicity and country of birth. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 24(5), 441-448.

Hedderson, M. M., Gunderson, E. P., & Ferrara, A. (2010). Gestational weight gain and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstetrics & Gynecology*, 115(3), 597-604.

Hemminki, E., & Meriläinen, J. (1995). Long-term follow-up of mothers and their infants in a randomized trial on iron prophylaxis during pregnancy. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 173(1), 205-209.

Hillier, T., Pedula, K., Schmidt, M., Mullen, J., Charles, M., & Pettitt, D. (2007). Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia. *Diabetes Care*, 30(9), 2287-2292.

Hunsberger, M., Rosenberg, K. D., & Donatelle, R. J. (2010). Racial/ethnic disparities in gestational diabetes mellitus: findings from a population-based survey. *Womens Health Issues*, 20(5), 323-328.

Jiang, R., Manson, J. E., Meigs, J. B., Ma, J., Rifai, N., & Hu, F. B. (2004a). Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA*, 291(6), 711-717.

Jiang, R., Ma, J., Ascherio, A., Stampfer, M. J., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2004b). Dietary iron intake and blood donations in relation to risk of type 2 diabetes in men: a prospective cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(1), 70-75.

Jovanovic, L., & Pettitt, D. (2001). Gestational diabetes mellitus. *JAMA*, 286(20), 2516-2518.

Kim, C., Newton, K. M., & Knopp, R. H. (2002). Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*, 25(10), 1862-1868.

Kim, S. Y., England, L., Wilson, H. G., Bish, C., Satten, G. A., & Dietz, P. (2010). Percentage of gestational diabetes mellitus attributable to overweight and obesity. *American Journal of Public Health*, 100, 1047-1052.

Lao, T. T., Chan, P. L., & Tam, K. F. (2001). Gestational diabetes mellitus in the last trimester - a feature of maternal iron excess? *Diabetic Medicine*, 18(3), 218-223.

Lao, T. T., Chan, L. Y., Tam, K. F., & Ho, L. F. (2002). Maternal hemoglobin and risk of gestational diabetes mellitus in Chinese women. *Obstetrics & Gynecology*, 99(5 Pt 1), 807-812.

Lao, T. T., & Ho, L. F. (2004). Impact of iron deficiency anemia on prevalence of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27(3), 650-656.

Lauenborg, J., Mathiesen, E., Hansen, T., Glumer, C., Jorgensen, T., Borch-Johnsen, K., Hornnes, P., Pedersen, O., & Damm, P., (2005). The prevalence of the metabolic syndrome in a danish population of women with previous gestational diabetes mellitus is three-fold higher than in the general population. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), 4004-4010.

Lawlor, D. A., Fraser, A., Lindsay, R. S., Ness, A., Dabelea, D., Catalano, P., Davey Smith, G., Sattar, N., & Nelson, S. M. (2010). Association of existing diabetes,

gestational diabetes and glycosuria in pregnancy with macrosomia and offspring body mass index, waist and fat mass in later childhood: findings from a prospective pregnancy cohort. *Diabetologia*, 53(1), 89-97.

Lee, A. J., Hiscock, R. J., Wein, P., Walker, S. P., & Permezel, M. (2007). Gestational diabetes mellitus: clinical predictors and long-term risk of developing type 2 diabetes: a retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes Care*, 30(4), 878-883.

Lee, D. H., Folsom, A. R., & Jacobs, D. R. Jr. (2004). Dietary iron intake and Type 2 diabetes incidence in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Diabetologia*, 47(2), 185-194.

Liu, Q., Sun, L., Tan, Y., Wang, G., Lin, X., & Cai, L. (2009). Role of iron deficiency and overload in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications. *Current Medicinal Chemistry*, 16(1), 113-129.

Lu, G. C., Luchesse, A., Chapman, V., Cliver, S., Rouse, D. J. (2002). Screening for gestational diabetes mellitus in the subsequent pregnancy: is it worthwhile? *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 187(4), 918-921.

Luoto, R. M., Kinnunen, T. I., Aittasalo, M., Ojala, K., Mansikkamäki, K., Toropainen, E., Kolu, P., & Vasankari, T. (2010). Prevention of gestational diabetes: design of a cluster-randomized controlled trial and one-year follow-up. *BMC Pregnancy & Childbirth*, 10:39.

Luoto, R., Kinnunen, T. I., Aittasalo, M., Kolu, P., Raitanen, J., Ojala, K., Mansikkamäki, K., Lamberg, S., Vasankari, T., Komulainen, T., & Tulokas, S. (2011). Primary prevention of gestational diabetes mellitus and large-for-gestational-age newborns by lifestyle counseling: a cluster-randomized controlled trial. *PLoS Medicine / Public Library of Science*, 8(5), e1001036.

MacNeill, S., Dodds, L., Hamilton, D., Armson, B. A., & VandenHof, M. (2001). Rates and risk factors for recurrence of gestational diabetes. *Diabetes Care*, 24(4), 659-662.

Milman, N., Bergholt, T., Byg, K. E., Eriksen, L., & Graudal, N. (1999). Iron status and iron balance during pregnancy. A critical reappraisal of iron supplementation. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 78(9), 749-857.

Milman, N., Bergholt, T., Eriksen, L., Byg, K. E., Graudal, N., Pedersen, P., & Hertz, J. (2005). Iron prophylaxis during pregnancy - how much iron is needed? A randomized dose- response study of 20-80 mg ferrous iron daily in pregnant women. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 84(3), 238-247.

Minamiyama, Y., Takemura, S., Kodai, S., Shinkawa, H., Tsukioka, T., Ichikawa, H., Naito, Y., Yoshikawa, T., & Okada, S. (2010). Iron restriction improves type 2 diabetes mellitus in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology & Metabolism*, 298(6), E1140-9.

Olejnicka, B. T., Andersson, A., Tyrberg, B., Dalen, H., & Brunk, U. T. (1999). Beta-cells, oxidative stress, lysosomal stability, and apoptotic/necrotic cell death. *Antioxidants & Redox Signaling*, 1(3), 305-315.

Papanikolaou, G., & Pantopoulos, K. (2005). Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202, 199-211.

Pena-Rosas, J. P., & Viteri, F. E. (2009). Effects and safety of preventive oral iron or iron+folic acid supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4), CD004736.

Powell, L. W., & Yapp, T. R. (2000). Hemochromatosis. *Clinics in Liver Disease*, 4(1), 211-228.

Qiu, C., Zhang, C., Gelaye, B., Enquobahrie, D. A., Frederick, I. O., & Williams, M. A. (2011). Gestational diabetes mellitus in relation to maternal dietary heme iron and nonheme iron intake. *Diabetes Care*, 34(7), 1564-1569.

Rajpathak, S., Ma, J., Manson, J., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2006). Iron intake and the risk of type 2 diabetes in women: a prospective cohort study. *Diabetes Care*, 29(6), 1370-1376.

Raskausdiabetes (online). Käypä hoito -suositus. (2008). Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Fysiatriyhdistyksen asettama työryhmä.

Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, (viitattu 25.1.2012). Saatavilla Internetissä: www.kaypahoito.fi.

Salonen, J. T., Tuomainen, T. P., Nyyssönen, K., Lakka, H. M., & Punnonen, K. (1998). Relation between iron stores and non-insulin dependent diabetes in men: case-control study. *BMJ*, 317(7160), 727.

Siege-Riz, A. M., Hartzema, A. G., Turnbull, C., Thorp, J., McDonald, T., & Cogswell, M. E. (2006). The effects of prophylactic iron given in prenatal supplements on iron status and birth outcomes: A randomized controlled trial. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 194(2), 512-519.

Solomon, C. G., Willett, W. C., Carey, V.J., Rich-Edwards, J., Hunter, D. J., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Speizer, F. E., Spiegelman, D., & Manson, J. E. (1997). A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *JAMA*, 278, 1078-1083.

Steer, P. J. (2000). Maternal hemoglobin concentration and birth weight. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5 suppl), 1285S-7S.

Stotland, N.E., Caughey, A.B., Breed, E.M., & Escobar, G.J. (2004). Risk factors and obstetric complications associated with macrosomia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 87, 220-226.

Swaminathan, S., Fonseca, V., Alam, M. & Shah, S. (2007). The role of iron in diabetes and its complications. *Diabetes Care*, 30(7), 1926-1933.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. (2012). Perinataalitilasto: synnyttäjät, synnytykset ja vastasyntyneet 2011. Suomen virallinen tilasto, Terveys 2012. Tilastoraportti 20/2012.

Torloni, M. R., Betran, A. P., Horta, B. L., Nakamura, M. U., Atallah, A. N., Moron, A. F., & Valente, O. (2009). Prepregnancy BMI and the risk of gestational diabetes: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Obesity Reviews*, 10(2), 194-203.

Tuomainen, T-P., Nyyssönen, K., Salonen, R., Tervahauta, A., Korpela, H., Lakka T, Kaplan, G. A., & Salonen, J. T. (1997). Body iron stores are associated with serum

insulin and blood glucose concentrations: population study in 1,013 eastern Finnish men. *Diabetes Care*, 20, 426-428.

Walsh, J. M., Mahony, R., Byrne, J., Foley, M., & McAuliffe, F. M. (2011). The association of maternal and fetal glucose homeostasis with fetal adiposity and birthweight. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, & Reproductive Biology*, 159(2), 338-341.

Weinberg, E. D. (2009). Are iron supplements appropriate for iron replete pregnant women?. *Medical Hypotheses*, 73(5), 714-715.

Wilson, J. G., Lindquist, J. H., Grambow, S. C., Crook, E. D., & Maher, J. F. (2003). Potential role of increased iron stores in diabetes. *American Journal of the Medical Sciences*, 325(6), 332-339.

4. ARTIKKELI

Iron intake, haemoglobin and risk of gestational diabetes: a prospective cohort study

Annika Helin, MSc student¹, Tarja I Kinnunen, university teacher¹, Jani Raitanen, statistician^{1,2}, Riitta Luoto, research director^{2,3}

Affiliations:

¹ University of Tampere, School of Health Sciences, FI-33014 University of Tampere, Finland;

² The UKK Institute for Health Promotion Research, P. O. Box 30, FI-33501 Tampere, Finland;

³ The National Institute for Health and Welfare, The Unit of Sexual and Reproductive Health, P.O. Box 30, FI-00271, Helsinki, Finland

Correspondence to: Tarja Kinnunen Tarja.I.Kinnunen@uta.fi

The guarantor: Riitta Luoto

The Corresponding Author has the right to grant on behalf of all authors and does grant on behalf of all authors, an exclusive licence on a worldwide basis to the BMJ Publishing Group Ltd to permit this article (if accepted) to be published in BMJ editions and any other BMJ PGL products and sublicences such use and exploit all subsidiary rights, as set out in our licence.

Keywords: gestational diabetes, iron intake, iron supplementation, pregnancy, haemoglobin

Word count 3311

Abstract

Objective To investigate the possible association between total daily iron intake from both food and supplements during pregnancy, haemoglobin in early pregnancy and the risk of gestational diabetes mellitus (GDM) in women at increased risk of GDM.

Design A prospective cohort study (based on a cluster-randomised controlled trial, where the intervention and the usual care groups were combined).

Setting Primary health care maternity clinics in 14 municipalities in south-western Finland.

Participants 399 pregnant women who were at increased risk of GDM participated in a GDM prevention trial and were followed throughout pregnancy.

Main outcome measurements The main outcome was GDM diagnosed with oral glucose tolerance test at 26-28 weeks' gestation or based on a diagnosis recorded in the Finnish Medical Birth registry. Data on iron intake was collected using a 181-item food frequency questionnaire and separate questions for supplement use at 26-28 weeks' gestation.

Results GDM was diagnosed in 72 women (18.1%) in the study population. The odds ratio (OR) for total iron intake as a continuous variable was 1.005 (95% confidence interval 1.000 to 1.011; $P=0.041$) after adjustment for BMI, age, diabetes in first- or second-degree relatives and GDM or macrosomia in earlier pregnancy. Women in the highest fifth of total daily iron intake had an OR of 1.55 (95% confidence interval 0.81 to 2.96; $P=0.19$) for GDM. After excluding participants with low haemoglobin levels (≤ 120 g/l) already in early pregnancy the OR was 2.21 (95% confidence interval 1.11 to 4.41; $P=0.025$).

Conclusions Our results suggest that high iron intake during pregnancy increases the risk of GDM especially in women who are not anaemic in the beginning of the pregnancy and who are at increased risk of GDM. These findings suggest that routine iron supplementation should be reconsidered in this risk group of women.

Trial registration: Current Controlled Trials [ISRCTN33885819](https://www.ccrtrials.com/ISRCTN33885819)

INTRODUCTION

Gestational diabetes mellitus (GDM) is a disturbance in glucose metabolism, which is diagnosed during pregnancy and affects 1-14% of pregnancies in different populations¹. The incidence of gestational diabetes has been increasing the last 20 years². Risk factors for GDM include higher maternal body mass index (BMI), higher age and family history of diabetes³. Approximately half of the GDM cases can be explained by overweight⁴. GDM causes short and long term risks to both the mother and the child. The most common result of GDM is newborn macrosomia, which increases several adverse outcomes during delivery such as shoulder dystocia, perineal lacerations, blood loss and increased caesarean birth⁵. GDM also increases the risk of glucose metabolism disorders and type 2 diabetes in later life of the mother and the newborn^{6 7}.

High iron load and disorders of iron metabolism have been associated with an increased risk of disturbances in glucose metabolism⁸⁻¹⁰. In hereditary hemochromatosis iron accumulation in the body leads to diabetes in 30-60% of patients¹¹. Also in animal models iron has been shown to induce diabetes¹². Iron binding medication is effective in preventing diabetes in iron overload conditions¹³. Frequent blood donation has been shown to result in improvement in glucose metabolism even in healthy people¹⁴. Higher iron stores have been found in gestational diabetes patients measured most commonly by serum ferritin¹⁵⁻¹⁷. High haemoglobin level in early pregnancy has been reported to be an independent risk factor for GDM¹⁸ and lower haemoglobin levels and anaemia during pregnancy have been shown to result in lower risk of GDM¹⁹. A large proportion of women, up to 78% in Finland²⁰, use supplemental iron during pregnancy even with good haemoglobin levels and thus it is an important matter to investigate the possible adverse effects of iron. High iron intake could be especially risky for women with already good iron stores.

Studies of total iron intake and the risk of GDM are scarce: only Bowers et al.²¹ have investigated pre-pregnancy total iron intake in relation to the risk of GDM. Other studies have investigated iron intake either from food or supplements only and have thus failed to report the effect of total iron intake^{22 23}. Only one placebo

controlled clinical trial has been conducted on supplemental iron and the risk of GDM²⁴. To our knowledge there are no published studies of total iron intake during pregnancy, haemoglobin and the risk of GDM. The objective of this study was to investigate the possible association between total daily iron intake from both food and supplements during pregnancy, haemoglobin levels in early pregnancy and the risk of gestational diabetes in women at increased risk of GDM.

MATERIAL AND METHDOS

The data of this study was originally collected as a part of a larger gestational diabetes prevention trial, which is described in more detail elsewhere²⁵. The effects of the intervention on GDM and newborns birthweight have been reported elsewhere²⁶. This cluster-randomised trial was carried out in 14 municipalities in Pirkanmaa region in south-western Finland in 2007-2009. The municipalities were randomised in pairs into intervention and usual care municipalities.

The inclusion criteria for the trial was to have at least one of the following risk factors: BMI ≥ 25 kg/m²; age ≥ 40 years; GDM, glucose intolerance or newborn's macrosomia (≥ 4500 g) in any earlier pregnancy or type 1 or 2 diabetes in first- or second-degree relatives. Women were excluded from the trial if they had an abnormal measurement in the baseline (8-12 weeks' gestation) glucose tolerance test (fasting blood glucose ≥ 5.3 mmol/l, >10.0 mmol/l at 1 h or >8.6 mmol/l at 2 h); pre-pregnancy diabetes (type 1 or 2); age <18 years; no Finnish language skills; multiple pregnancy; restrictions from physical activity; substance abuse or psychiatric illness. The trial was approved by the ethical committee of Pirkanmaa Hospital District and written informed consent was provided by the participants.

A total of 2271 women were screened for the study and of them 726 were preliminary eligible to participate in the study²⁶. Of these women 640 (88.2%) gave an informed consent to participate in the trial. At the baseline (8-12 weeks' gestation) oral glucose tolerance test 174 women had an abnormal result and were thus excluded. Furthermore 38 women had a miscarriage and 29 were lost to

follow-up. Finally, 399 participants were included in the analyses (219 in the intervention group and 180 in the usual care group).

The intervention group participated in individual counselling on weight gain, physical activity and diet on five antenatal visits in primary health care maternity clinics. The objectives of the counselling were to guide the participants in monitoring their weight gain, increasing or maintaining their leisure time physical activity and achieving a healthy diet fulfilling the national recommendations. The effects of intensified dietary counselling on food habits and the intake of energy, energy-yielding nutrients, fiber, selected fatty acids and cholesterol have been reported elsewhere²⁷. The counselling was not aiming to influence iron intake. In this study the intervention and usual care groups were combined and these groups had no differences in the incidence of GDM or in iron intake.

Background information of the participants was gathered with a baseline questionnaire at the first prenatal visit (8-12 weeks' gestation). Information of pre-pregnancy BMI (weight self reported and height measured at 8-12 weeks' visit) and haemoglobin were abstracted from maternity cards. In this study we used information of haemoglobin measurements from early pregnancy (weeks 8-12, or 16-18 for those with missing values for 8-12 weeks) to determine the status of body iron stores in the beginning of pregnancy and before the physiological decrease in haemoglobin levels. The participants were considered to have good haemoglobin levels if they had a haemoglobin measurement of over 120 g/l according to the lower limit for normal haemoglobin in non-pregnant women²⁸. The limit for normal haemoglobin in pregnant women (110 g/l) was not used because of low frequency of cases with haemoglobin level under 110 g/l in early pregnancy (n=7). All women underwent a 75 g oral glucose tolerance test at 26-28 weeks' gestation. The criterion for gestational diabetes diagnosis was to have at least one abnormal value: fasting glucose after an overnight fast ≥ 5.3 mmol/l, blood glucose >10.0 mmol/l one hour after or >8.6 mmol/l two hours after consuming 75 g of glucose. To cover all possible cases information of gestational diabetes was abstracted from the Finnish Medical Birth Register.

Information of diet and supplement use was obtained by a validated 181-item food frequency questionnaire²⁹. The participants completed the questionnaire at 8-12 weeks' gestation and again at 26-28 and 36-37 weeks' gestation. In the 8-12 weeks' questionnaire the participants were asked about their dietary habits during one month before beginning of the pregnancy and in 26-28 and 36-37 weeks' questionnaires the participants were asked about their dietary habits during the previous month. The completed questionnaires were checked by a nutritionist and those with more than ten missing values in the frequency data were completed after consulting the participant on the phone. In the food frequency questionnaire the dietary habits were assessed by detailed questions of frequency of use (per day, week, month or not at all) and the portion sizes of specific food items. The participants were also asked to report their supplement use: brand name of the supplement, dosage and frequency of use (per day, week or month). The gathered data was then entered into a food database using a software program of the National Institute for Health and Welfare, Helsinki, Finland, and coded to daily food record form. Nutrient intakes were calculated by using the 10th release (updated in 2009) of the Finnish Food Composition Database Fineli (www.fineli.fi) and in-house software of the National Institute for Health and Welfare, Helsinki. In this study information of dietary habits and supplement use at 26-28 weeks of gestation was used to get the best estimation of iron intake during pregnancy and before the onset of GDM.

Statistical methods

The study population was categorised into five equal groups according to their total daily iron intake. To better see the differences between women in the highest fifth of total iron intake and the other women, we combined the three groups in the middle (20, 60 and 20 percent). The groups were tested for possible differences in risk factors and other background characteristics using Chi-square test, Kruskal-Wallis test or One-way ANOVA. The incidence of GDM was then investigated between the iron intake groups and the differences were tested statistically using Chi-square test or Fisher exact test. Haemoglobin was considered as a potential

effect modifier. Women were divided into two groups according to their haemoglobin level in early pregnancy: >120 g/l or ≤ 120 g/l.

Logistic regression was used to assess the odds ratio (OR) for gestational diabetes. The dependent variable in the regression model was GDM (yes/no). In the first model iron intake was assessed as a continuous variable. In the second model the highest fifth of total iron intake (intake ≥ 110 mg) was compared to the rest of the study population (iron intake under 110 mg). The models were adjusted for BMI, age (both as continuous), diabetes in first- or second-degree relatives and GDM or macrosomia in earlier pregnancy (both as categorical). Both models were executed separately for all women and for women with haemoglobin levels over 120 g/l in early pregnancy (8-12 or 16-18 weeks' gestation).

We also added interaction terms for iron intake and haemoglobin and for iron intake and BMI to the model but they were not statistically significant and therefore are not presented here. In sensitivity analyses, we examined the association between the total iron intake and the risk of GDM using alternative cut-off points for categorising participants based on their iron intake (15, 70 and 15 percent; 25, 50 and 25 percent and 30, 40 and 30 percent) and the same statistical tests as described above. All analyses were performed with SPSS statistics (version 19).

RESULTS

Based on the questionnaire completed at 26-28 weeks' gestation, the mean daily iron intake from food was 14.4 mg (SD 4.3; median 13.9 mg) among the study population. In the study group 65.7% of women used supplemental iron and the median of supplemental intake was 27.0 mg. The most used dosages for iron supplementation were 10.0 mg, 20.0 mg and 100.0 mg of elemental iron (Fe^{2+}). The median for total iron intake was 27.1 mg (interquartile range 15.5-89.3 mg) (Figure 1). Iron intake from food was similar in nonusers and users of supplemental iron: users of supplemental iron had a mean daily intake of 14.5 mg (SD 4.5) and nonusers 14.3 mg (SD 3.9). The mean haemoglobin level of the study

population in the beginning of pregnancy was 134 g/l (SD 11; min 107 g/l; max 169 g/l).

The oral glucose tolerance test at 26-28 weeks' gestation was abnormal in 14.0% of the study population (n=56, missing value for three women). Furthermore 16 women received a gestational diabetes diagnosis during their pregnancy. Figure 2 shows the incidence of GDM in fifths of total iron intake. There was a tendency for a higher incidence of GDM in the highest fifth of total iron intake.

Between the iron intake groups (20%, 60% and 20%) there were no significant differences in terms of proportion of primigravida, age, diabetes in first- or second-degree relatives or GDM or macrosomia in earlier pregnancy (Table 1). Women in the highest iron intake group had a slightly lower mean BMI as compared to other women (P=0.05). Haemoglobin levels in early pregnancy differed between the groups as expected (P<0.001). Table 2 shows the incidence of GDM in the three iron intake groups. The incidence was higher in the highest iron intake group (20.8%) compared to the other two groups (16.7% in both) but the difference was not statistically significant (P=0.70). After excluding those who had low haemoglobin levels (≤ 120 g/l) already in early pregnancy, the difference between the groups was even larger but still not statistically significant (P=0.11).

The logistic regression model shows that after adjustment for risk factors and background characteristics total iron intake was significantly and positively associated with gestational diabetes mellitus (Table 3). When iron intake was used as a continuous variable the OR was 1.005 (P=0.041) for all women and 1.008 (P=0.005) for those with haemoglobin levels over 120 g/l. In the second model the OR for GDM was 1.55 (95% confidence interval 0.81 to 2.96, P=0.19) for the highest fifth of iron intake among all women. After excluding women with low haemoglobin levels (≤ 120 g/l) in early pregnancy the OR was 2.21 (95% confidence interval 1.11 to 4.41, P=0.025).

In sensitivity analyses the odds ratios were higher when 15% of women with the highest iron intake were compared to the rest 85% of women. The odds ratios

were lower when 25% or 30% of women with highest intake were compared to the rest 75% and 70% of women respectively (results not shown).

DISCUSSION

In this study we investigated the possible association between total daily iron intake during pregnancy, haemoglobin in early pregnancy and the risk of gestational diabetes. To our knowledge there are no similar studies published previously. We discovered that there was a tendency for a higher incidence of GDM in the highest fifth of total iron intake. High iron intake increased the risk of GDM especially for those women who had good haemoglobin levels in early pregnancy: we discovered a two-fold OR for GDM for women in the highest fifth of iron intake with a haemoglobin level of over 120 g/l in early pregnancy.

Our study has several strengths. Firstly unlike most of the previous studies we had detailed information of iron intake from both food and supplements. Secondly we had information of baseline OGTT and could therefore exclude women with undiagnosed prepregnancy diabetes. Additionally Finnish Medical Birth Registry could be utilized to cover those GDM cases that were undiagnosed in the 26-28 weeks' OGTT. We also had information of haemoglobin measurements of the study population during pregnancy although measured by nurses. All of our data was collected prospectively. The participation rate in the original trial was high (88% in both the intervention and the usual care groups) improving the generalisability of the results to other women with risk factors for GDM.

A limitation of this kind of study is that estimating iron intake during pregnancy can be challenging because dietary habits and use of supplements can vary a lot during pregnancy due to nausea and other changes in well being. Iron intake was assessed at a certain point in time, thus it does not cover the intake during the whole pregnancy. In our study we decided to use information of iron intake in mid-pregnancy to get the best estimation on iron intake during pregnancy and before the onset of GDM. We did not use information of iron intake abstracted in the beginning of pregnancy because it covered only dietary habits and supplement use

during one month before the pregnancy when use of supplemental iron is rare. However our information of iron intake covers only one month in the mid-pregnancy. Additionally we could not assess iron absorption, for example with blood measurements, which also can vary a lot depending on body iron status and the contents of meals.

There are also limitations concerning the haemoglobin measurements used in our study. In the maternity clinics haemoglobin levels are usually screened with a capillary haemoglobin measurement using finger-stick samples. This method has been demonstrated to be reliable in determining haemoglobin values but it is however susceptible to handling errors³⁰ and therefore there can be variation in the test results. Additionally we had a lot of missing values in haemoglobin measurements and thus we decided to use the haemoglobin measurement at 16-18 weeks' gestation for those with missing values at weeks 8-12 (n= 28). Although measurements at weeks 16-18 do not present the haemoglobin levels at early pregnancy our objective was to analyse separately women who were not anaemic and thus including women who had a haemoglobin level of over 120 g/l still at weeks 16-18 would help us not to underestimate the proportion of women who were not anaemic in the beginning of the pregnancy. However for these reasons our results in respect of haemoglobin measurements should be considered with caution and further studies with reliable and comprehensive haemoglobin measurements are warranted to confirm our results.

In a somewhat similar study Bo et al.²² discovered that women who used supplemental iron during mid-pregnancy had a 2- to 3-fold risk of GDM. They however had no information of dietary intake of iron or haemoglobin levels or other measurements of iron stores. Their findings are however in line with our results which suggest that dietary intake could play a relatively small part in the association whereas high supplemental iron intake could be responsible for most of the increase in GDM risk. Somewhat different results have been reported recently by Bowers et al.²¹ and Qiu et al.²³. Bowers et al.²¹ investigated dietary and supplemental iron intake during one year before pregnancy utilising the material from the Nurses Health study. They observed no significant effect of total,

nonheme or supplemental iron intake on the risk of GDM. It can be argued though, that usually iron supplementation outside of pregnancy is more rare and concerns mainly those who are anaemic. However they did find a significant and positive association between heme iron intake and GDM. Similarly Qiu et al.²³ demonstrated an association between heme iron intake during the time before conception and in early pregnancy and the risk of GDM. To our knowledge only one placebo controlled clinical trial has been conducted to investigate the association between iron supplementation and GDM²⁴. This study did not observe any association. However it can be argued that the intake of supplemental iron was quite low in this study because of only about 50% compliance to a daily supplement of 60 mg of elemental iron.

Iron is a highly reactive component with a possibility to participate in harmful reactions³¹. The human body can excrete iron with very limited mechanisms and thus iron intake is highly regulated according to body iron needs³². Iron could interfere with glucose metabolism in several ways. For example following mechanisms have been proposed: Iron decreases insulin extraction and metabolism in the liver, which leads to peripheral hyperinsulinemia³³. Iron overload results in oxidative stress in pancreatic β -cells, which leads to destruction of the pancreatic islets and thus decreases insulin secretion³⁴. The exact mechanisms, which link iron to diabetes are still unsolved. However the association can be argued to be biologically plausible.

Accumulating body of evidence supports the hypothesis of excess iron as a risk factor for glucose metabolism disorders such as gestational diabetes. Iron deficiency anaemia has been shown to reduce the incidence of GDM¹⁹. Respectively high haemoglobin level (>130 g/l) in early pregnancy has been demonstrated to be an independent risk factor for GDM¹⁸. It seems that iron can affect glucose metabolism even with no overt iron overload. Women diagnosed with GDM have been observed to have increased iron stores compared to women without GDM¹⁵¹⁷. However many of these studies have been cross-sectional and it has been criticised that higher serum ferritin levels could in fact reflect inflammation in the body and could be rather a result than a cause for diabetes¹⁶.

In summary it seems that high iron intake might be a factor, which increases the risk of GDM especially in women with already good iron stores. Use of iron supplements during pregnancy is common even in women with good haemoglobin levels. Our results suggest that routine use of iron supplements should be reconsidered in non-anaemic women with risk factors for GDM. To confirm the hypothesis there is need for a large prospective study – ideally a randomised controlled trial – with reliable and comprehensive information on iron intake from food and supplements during pregnancy accompanied with serum measurements to determine the level of body iron stores.

Author contributions

AH, TIK and RL designed and conducted research; AH and JR performed statistical analyses; AH drafted the paper and revised it based on the comments from the other authors. TIK and RL have the primary responsibility for final content. All authors read, commented and approved the final manuscript.

Acknowledgements

Suvi M Virtanen and Suvi Ahonen are acknowledged for their contribution for the FFQ method and for dietary calculations. Jatta Puhkala is acknowledged for checking and coding the dietary data. We also sincerely thank all the nurses of the participating maternity clinics for their invaluable work in implementing the study protocol and the pregnant women who participated in the study.

A competing interest declaration

All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare that they have no financial or non-financial interests that may be relevant to the submitted work.

Funding

(Finnish) Diabetes Research Fund, Competitive Research Funding of the Tampere University Hospital, Academy of Finland, Ministry of Education, and Ministry of Social Affairs and Health. The views expressed in this paper are those of the authors and not necessarily those of the funders.

What is already known on this subject

- High iron stores and high iron intake have been associated with the risk of GDM in several studies.
- Anaemia is known to result in lower incidence of GDM.
- There are no previous studies available in which total daily iron intake during pregnancy and haemoglobin levels have been studied in relation to GDM risk.

What this study adds

- Our results suggest that high iron intake during pregnancy increases the risk of GDM especially in women who are not anaemic in the beginning of the pregnancy and who are at increased risk of GDM.
- Our findings suggest that routine iron supplementation should be reconsidered in this risk group of women.

References

- 1 American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012;35(Suppl 1):S64-71.
- 2 Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care* 2007;30(Suppl 2):S141-6.
- 3 King H. Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care* 1998;21(Suppl. 2):B9–B13.
- 4 Kim SY, England L, Wilson HG, Bish C, Satten GA, Dietz P. Percentage of gestational diabetes mellitus attributable to overweight and obesity. *Am J Public Health* 2010;100:1047-52.
- 5 Stotland NE, Caughey AB, Breed EM, Escobar GJ. Risk factors and obstetric complications associated with macrosomia. *Int J Gynaecol Obstet* 2004;87:220-6.
- 6 Lee AJ, Hiscock RJ, Wein P, Walker SP, Permezel M. Gestational diabetes mellitus: clinical predictors and long-term risk of developing type 2 diabetes: a retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes Care* 2007;30:878-883.
- 7 Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, Schmidt L, Damm P. Overweight and the metabolic syndrome in adult offspring of women with diet-treated gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2464-2470.
- 8 Tuomainen TP, Nyysönen K, Salonen R, Tervahauta A, Korpela H, Lakka T, Kaplan GA, Salonen JT. Body iron stores are associated with serum insulin and blood glucose concentrations. Population study in 1,013 eastern Finnish men. *Diabetes Care* 1997;20:426-8.
- 9 Ford ES, Cogswell ME. Diabetes and serum ferritin concentration among U.S. adults. *Diabetes Care* 1999;22:1978-83.

- 10 Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA* 2004;291:711-7.
- 11 Powell LW, Yapp TR. Hemochromatosis. *Clinics in Liver Disease* 2000;4:211-28.
- 12 Awai M, Narasaki M, Yamanoi Y, Seno S. Induction of diabetes in animals by parenteral administration of ferric nitrilotriacetate. *Am J Pathol* 1979;95:663-73.
- 13 Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, McLaren CE, Young NS, Tucker EE, Allen CJ, Farrell DE, Harris John W. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1994;331:567-573.
- 14 Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Iron stores, blood donation, and insulin sensitivity and secretion. *Clin Chem* 2005;51:1201-5.
- 15 Lao TT, Chan PL, Tam KF. Gestational diabetes mellitus in the last trimester – a feature of maternal iron excess?. *Diabet Med* 2001;18:218-23.
- 16 Chen X, Scholl TO, Stein TP. Association of elevated serum ferritin levels and the risk of gestational diabetes mellitus in pregnant women: The Camden study. *Diabetes Care* 2006;29:1077-82.
- 17 Afkhami-Ardekani M, Rashidi M. Iron status in women with and without gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2009;23:194-8.
- 18 Lao TT, Chan LY, Tam KF, Ho LF. Maternal hemoglobin and risk of gestational diabetes mellitus in Chinese women. *Obstet Gynecol* 2002;99:807-12.
- 19 Lao TT, Ho LF. Impact of iron deficiency anemia on prevalence of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004;27:650-6.
- 20 Arkkola T, Uusitalo U, Pietikainen M, Metsala J, Kronberg-Kippila C, Erkkola M, Veijola R, Knip M, Virtanen SM, Ovaskainen ML. Dietary intake and use of

dietary supplements in relation to demographic variables among pregnant Finnish women. *Br J Nutr* 2006;96:913-20.

- 21 Bowers K, Yeung E, Williams MA, Qi L, Tobias DK, Hu FB, Zhang C. A prospective study of prepregnancy dietary iron intake and risk for gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011;34:1557-63.
- 22 Bo S, Menato G, Villois P, Gambino R, Cassader M, Cotrino I, Cavallo-Perin P. Iron supplementation and gestational diabetes in midpregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2009;201:158.e1-6.
- 23 Qiu C, Zhang C, Gelaye B, Enquobahrie DA, Frederick IO, Williams MA. Gestational diabetes mellitus in relation to maternal dietary heme iron and nonheme iron intake. *Diabetes Care* 2011;34:1564-9.
- 24 Chan KK, Chan BC, Lam KF, Tam S, Lao TT. Iron supplement in pregnancy and development of gestational diabetes - a randomised placebo-controlled trial. *BJOG* 2009;116:789-797.
- 25 Luoto RM, Kinnunen TI, Aittasalo M, Ojala K, Mansikkamaki K. Toropainen E, Kolu P. Vasankari T. Prevention of gestational diabetes: design of a cluster-randomized controlled trial and one-year follow-up. *BMC Pregnancy & Childbirth*. 10:39, 2010.
- 26 Luoto R, Kinnunen TI, Aittasalo M, Kolu P, Raitanen J, Ojala K, Mansikkamaki K, Lamberg S, Vasankari T, Komulainen T, Tulokas S. Primary prevention of gestational diabetes mellitus and large-for-gestational-age newborns by lifestyle counseling: a cluster-randomized controlled trial. *PLoS Med* 2011;8:e1001036. doi:10.1371/journal.pmed.1001036
- 27 Kinnunen TI, Puhkala J, Raitanen J, Ahonen S, Aittasalo M, Virtanen SM, Luoto R. Effects of dietary counseling on food habits and dietary intake of Finnish pregnant women at increased risk for gestational diabetes – a cluster-randomized controlled trial. *Matern Child Nutr* 2012 (in press).

- 28 World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva, World Health Organization 2001; WHO/NHD/01.3.
- 29 Erkkola M, Karppinen M, Javanainen J, Rasanen L, Knip M, Virtanen SM. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women. *Am J Epidemiol* 2001;154:466-476.
- 30 Ziemann M, Lizardo B, Geusendam G, Schlenke P. Reliability of capillary hemoglobin screening under routine conditions. *Transfusion* 2011;51:2714-9.
- 31 Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;202:199-211.
- 32 Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-95.
- 33 Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* 2002;51:2348-54.
- 34 Cooksey RC, Jouihan HA, Ajioka RS, Hazel MW, Jones DL, Kushner JP, McClain DA. Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. *Endocrinology* 2004;145:5305-12.

Table 1. Background characteristics of iron intake groups (20%, 60% and 20%), means (SD) or frequencies (%)

	20 % <14.2 mg/day (n=78)	60 % 14.2 – 109.9 mg/day (n=233)	20 % 110.0+ mg/day (n=78)	P-value
Total Fe intake (mg/day)	11.6 (2.0)	36.0 (25.1)	136.2 (36.5)	-
Primigravida	34 (43.6%)	96 (41.2%)	43 (55.1%)	0.099 ²
BMI (kg/m ²)	26.7 (4.4)	26.5 (4.7)	25.2 (4.3)	0.050 ³
Age (years)	29.3 (5.1)	29.8 (4.4)	29.6 (5.4)	0.70 ³
Diabetes in first- or second-degree relatives	44 (57.1%)	127 (54.5%)	48 (61.5%)	0.55 ²
GDM or macrosomia in previous pregnancy	14 (18.2%)	33 (14.2%)	10 (12.8%)	0.60 ²
Hb (8-12 weeks ¹) (g/l)	135.4 (9.6)	134.0 (10.9)	127.0 (10.0)	<0.001 ⁴

¹ 16-18 for those with missing values at 8-12 weeks (n=28), missing: Hb n=5, 20 and 6, respectively

² Chi-square test, ³ Kruskal-Wallis test, ⁴ One-way ANOVA

Table 2. GDM frequency in iron intake groups (20%, 60% and 20%)

	N	GDM, frequency (%)	P-value
All women			
(20%) <14.2 mg/day	78	13 (16.7)	0.70 ²
(60%) 14.2-109.9 mg/day	233	39 (16.7)	
(20%) 110.0+ mg/day	78	16 (20.8)	
Hb (8-12 weeks¹) >120 g/l			
(20%) <14.2 mg	69	13 (18.8)	0.11 ²
(60%) 14.2-109.9 mg	194	30 (15.5)	
(20%) 110.0+ mg	58	16 (27.6)	
Hb (8-12 weeks¹) ≤120 g/l			
(20%) <14.2 mg	3	0	0.45 ³
(60%) 14.2-109.9 mg	21	3 (14.3)	
(20%) 110.0+ mg	12	0	

¹ 16-18 for those with missing values at 8-12 weeks (n=28)² Chi-square test³ Fisher's exact test

Table 3. Incidence of GDM, unadjusted and adjusted ORs (95% CI) for iron intake at 26-28 weeks' gestation as a continuous and a categorical variable separately for all women and for women with haemoglobin >120 g/l

Fe intake as a continuous variable	Unadjusted OR (95% CI)	P-value	Adjusted OR (95% CI)²	P-value
<i>All women</i>				
Total Fe intake (mg/day)	1.004 (0.999 – 1.008)	0.16	1.005 (1.000 – 1.011)	0.041
BMI			1.11 (1.05 – 1.18)	<0.001
Age			1.03 (0.97 – 1.09)	0.32
Diabetes in first- or second-degree relatives			0.91 (0.52 – 1.59)	0.75
GDM or macrosomia in a previous pregnancy			1.95 (0.97 – 3.89)	0.059
<i>Women with Hb (8-12 weeks' gestation)¹ >120 g/l</i>				
Total Fe intake (mg/day)	1.007 (1.001 – 1.012)	0.013	1.008 (1.003 – 1.014)	0.005
BMI			1.11 (1.04 – 1.18)	0.001
Age			1.03 (0.97 – 1.10)	0.28
Diabetes in first- or second-degree relatives			0.80 (0.44 – 1.46)	0.46
GDM or macrosomia in a previous pregnancy			2.03 (0.96 – 4.29)	0.065
Fe intake as a categorical variable				
<i>All women</i>				
Total Fe intake (the highest 20% vs. the lowest 80%)	1.31 (0.70 – 2.44)	0.40	1.55 (0.81 – 2.96)	0.19
BMI			1.11 (1.05 – 1.17)	<0.001
Age			1.03 (0.97 – 1.09)	0.29
Diabetes in first- or second-degree relatives			0.89 (0.51 – 1.55)	0.68
GDM or macrosomia in a previous pregnancy			1.84 (0.92 – 3.64)	0.083
<i>Women with Hb (8-12 weeks' gestation)¹ >120 g/l</i>				
Total Fe intake (the highest 20% vs. the lowest 80%)	1.95 (1.005 – 3.78)	0.048	2.21 (1.11 – 4.41)	0.025
BMI			1.10 (1.04 – 1.17)	0.002
Age			1.04 (0.98 – 1.10)	0.24
Diabetes in first- or second-degree relatives			0.78 (0.43 – 1.41)	0.41
GDM or macrosomia in a previous pregnancy			1.87 (0.89 – 3.93)	0.10

¹ 16-18 weeks' gestation for those with missing values at 8-12 weeks' gestation (n=28) ² Adjusted for other variables in the model (total Fe intake, BMI, age, diabetes in first- or second-degree relatives and GDM or macrosomia in a previous pregnancy)

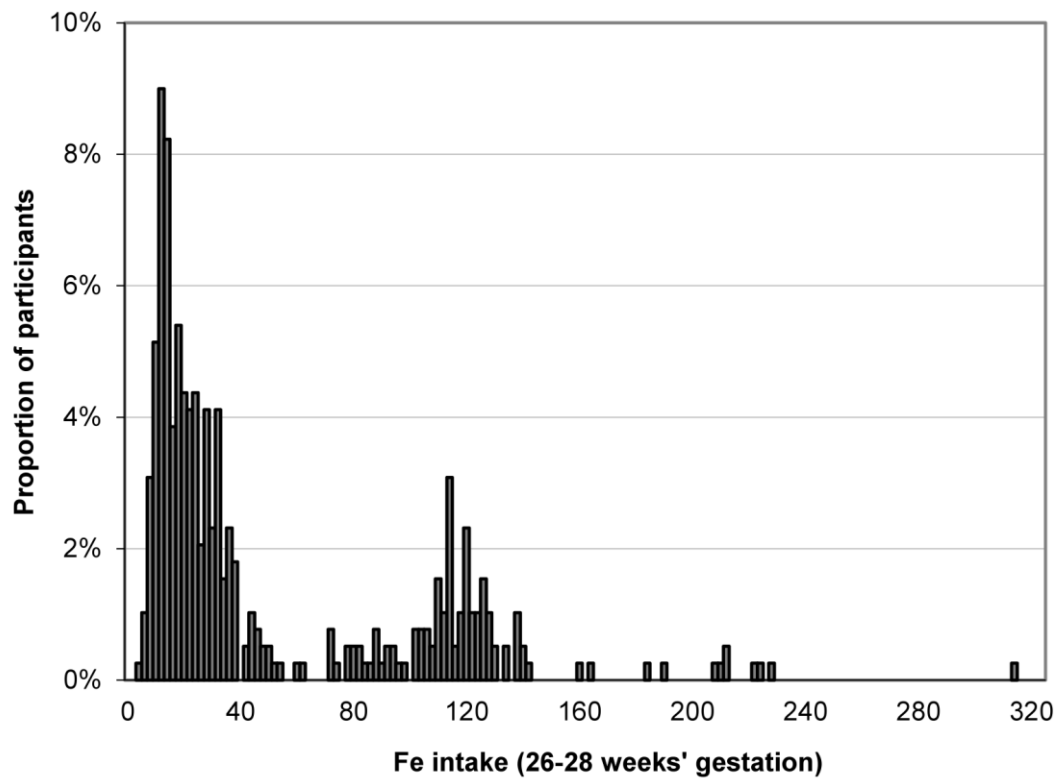


Figure 1. Total iron intake in mid pregnancy (26-28 weeks' gestation)

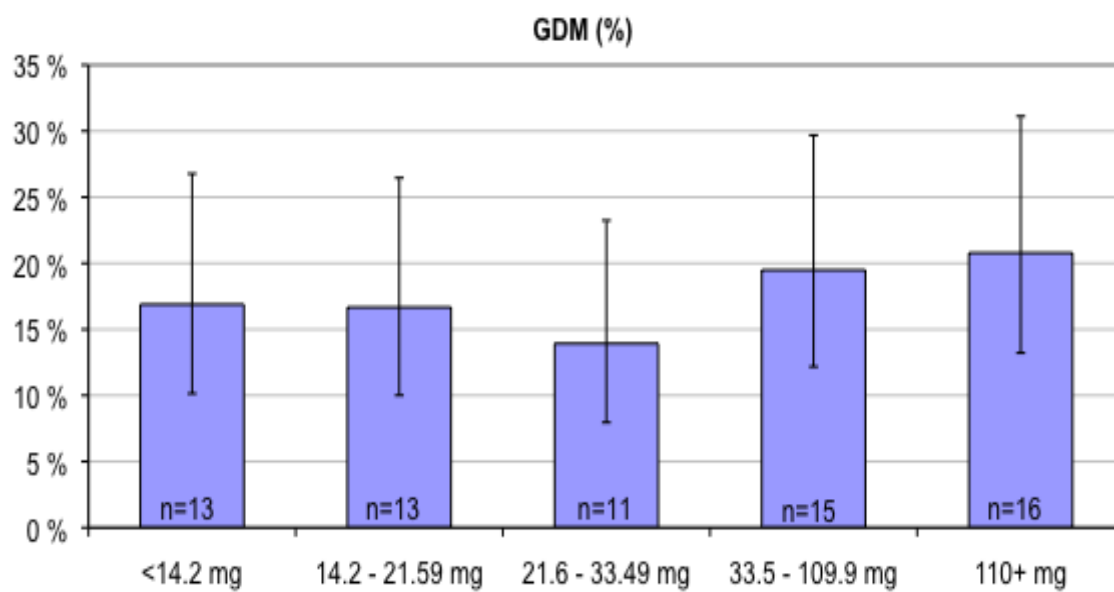


Figure 2. Incidence of GDM (%) in fifths of total iron intake

5. SELVITYS TUTKIMUKSEN TEOSTA

Selvitys pro gradu –tutkielman kirjoittajan osuudesta tutkimuksen ”Iron intake, haemoglobin and risk of gestational diabetes: a prospective cohort study” toteutuksessa

Kirjoittajat: Helin Annika, Kinnunen Tarja I, Raitanen Jani, Luoto Riitta

UKK-instituutissa oli tarjolla NELLI (neuvonta, elintavat ja liikunta neuvolassa) – tutkimuksen aineistoa käytettäväksi opinnäytetöitä varten. Ehdotetuista aihepiireistä olin eniten kiinnostunut aiheesta: ”Vitamiini- ja ravintolisien käyttö raskauden aikana ja yhteys glukoosiaineenvaihduntaan”. Tämä aihe tarkentui sittemmin muotoon: ”Raudan saanti raskauden aikana ja raskausdiabeteksen riski”. Tarja Kinnunen valittiin gradun ohjaajaksi ja Riitta Luoto resurssihenkilöksi. Pääasiallisesti graduntekoa ohjasi Tarja Kinnunen säännöllisissä tapaamisissa (noin kerran kuukaudessa) ja Riitta antoi ohjausta tutkimuksen käynnistysvaiheessa ja oli lopuksi mukana analyysien ja tulkintojen teossa.

Gradun teko alkoi tutkimussuunnitelman ja alustavan kirjallisuuskatsauksen laatimisella, jotka Tarja ja Riitta lukivat. Olin myös mukana tekemässä lopputarkistuksia lisäravinteita koskevaan dataan, joka ei vielä ollut käsiteltävässä muodossa. Aineiston valmistuttua tein analyyskejä, joita sitten muokkasinkin aina Tarjalta saadun palautteen mukaisesti. Ohjausta sain esimerkiksi tutkimuskysymyksen muotoilussa, tilastomenetelmien valinnassa, tutkittavien luokittelua koskevissa kokeiluissa ja tutkittavien taustatietojen kuvailussa.

Kun aineiston kuvailu (raskausdiabeteksen ilmaantuvuus luokittain raudansaannin mukaan, ristiintaulukot, ryhmittäiset taustatiedot) ja analyysit (logistinen regressio) alkoivat olla pidemmällä, järjestimme palaverreja, joihin osallistuivat Tarjan lisäksi Riitta ja tilastotieteilijä Jani Raitanen. Heidän kanssaan käydyn keskustelun pohjalta päätettiin vielä ryhmitellä aineistoa eri tavalla ja Jani toteutti suunnittelemani analyyskejä ja laati taulukoita erilaisilla ryhmittelyillä joista sitten Riitan opastuksella valittiin lopulliset versiot. Hahmottelemieni kuvien

ja taulukoiden pohjalta ja Riitan ja Tarjan kommenttien perusteella Jani toteutti lopulliset kuvat ja taulukot, joita sitten vielä muotoilimme lopulliseen muotoonsa. Analyysien valmistuttua laadin artikkelikäsikirjoituksen, jota parantelin muutamaa otteeseen muilta saamani palautteen perusteella.